

---

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

---

## ÉTUDES SUR LA FIÈVRE TYPHOÏDE EXPÉRIMENTALE

PAR LE D<sup>r</sup> JOSEPH SANARELLI

Docent d'hygiène (Rome)

(Travail du Laboratoire de M. E. Metchnikoff à l'Institut Pasteur)

DEUXIÈME MÉMOIRE

---

### I

#### LA TOXINE TYPHIQUE

La fièvre typhoïde, telle qu'on peut l'étudier sur l'homme ou l'obtenir chez les animaux, présente un type de maladie si différent de tant d'autres, que, malgré les nombreuses recherches de ces derniers temps, son mécanisme biologique nous est presque entièrement inconnu.

Néanmoins, il faut y noter la disproportion entre la quantité de microbes trouvés dans les tissus et la gravité des effets morbides déterminés par eux. Cela fait croire à l'existence d'un poison, dont l'étude pourra peut-être éclaircir ce qui reste encore d'obscur dans la nature de la fièvre typhoïde.

Les premières études sur la toxine typhique remontent à M. *Briege*<sup>1</sup>, qui a extrait des cultures typhiques une base qu'il a appelée *typhotoxine*, et qui paraissait douée de grandes propriétés toxiques. Mais on sait aujourd'hui qu'il n'y a pas à compter avec les recherches de M. *Briege*, et que ses *ptomaines* ne sont d'ordinaire que des produits de décomposition, dus au traitement que l'on fait subir à la substance albuminoïde

1. Weitere Untersuchungen über Ptomaine. Berlin, 1883.

ou aux poisons microbiques préexistants dans les cultures. Les travaux de M. Salkowski<sup>1</sup> et de MM. Bouveret et Devic<sup>2</sup>, sur la peptotoxine de M. Brieger, ont très bien mis en lumière ce fait, en démontrant que l'évaporation des liquides albuminoïdes en présence d'acide chlorhydrique, et leur extraction consécutive avec l'alcool, sont déjà capables par elles-mêmes de produire artificiellement des corps considérés par M. Brieger comme des ptomaines.

D'un autre côté les détails que nous a donnés M. Brieger sur l'action physiologique de la *typhotoxine* ne présentent aucune analogie avec l'état morbide de la fièvre typhoïde expérimentale, et par conséquent la démonstration du poison typhique nous échappe encore entièrement.

Un travail plus récent de Brieger et Fränkel<sup>3</sup> nous donne à ce sujet quelques autres détails. En employant les mêmes méthodes analytiques que dans leurs recherches antérieures sur les toxines diphtériques, ces savants ont filtré des cultures de bacilles typhiques, concentrées au tiers dans le vide à 30°; après cela ils ont ajouté dix fois le volume d'alcool et quelques gouttes d'acide acétique.

Le précipité ainsi obtenu a été de nouveau dissous dans l'eau, saturé avec du sulfate d'ammoniaque, et dialysé. La partie dialysée se montra inactive sur les animaux; celle qui était restée sur le dialyseur donna les réactions de l'albumine ordinaire et manifesta un pouvoir toxique assez faible. Les cobayes étaient peu sensibles à cette toxo-albumine, et les lapins mouraient après quelques jours, sans présenter aucunes lésions appréciables.

Comme il est facile de le comprendre, les résultats nous laissent encore loin de la solution du problème. Qu'était en elle-même, et pour combien comptait, dans le précipité complexe obtenu par MM. Brieger et Fränkel, la toxine typhique? C'est ce qu'il est impossible de dire.

Toutes les tentatives faites pour nous donner une idée de la nature chimique des poisons microbiques ont complètement échoué. Les méthodes ordinaires de la chimie sont évidemment

1. Über das Peptotoxin (*Virchow's Archiv.*, 1891. Vol. 124, page 409).

2. Sur la tétanie d'origine gastrique (*Revue de médecine*, 1892, nos 1, 2).

3. Untersuchungen über Bacteriengifte (*Berliner Klinische Woch.*, 1890. nos 41, 42).

trop énergiques pour pouvoir éviter la formation de produits artificiels ou la décomposition des poisons microbiques.

Il ne suffit d'ailleurs pas d'obtenir la mort d'un animal inoculé avec un de ces produits pour l'assimiler avec le poison spécifique. Il faut encore trouver des analogies entre les phénomènes d'intoxication expérimentale et la symptomatologie clinique de la forme morbide.

Or, jusqu'ici, l'emploi des réactifs chimiques a toujours fourni des composés qui non seulement ne représentaient pas des matières tout à fait pures, mais aussi avaient perdu la plus grande partie de leur nature et de leur activité.

Mieux vaut donc, pour le moment, s'en tenir à l'étude de la toxine typhique, telle qu'on la trouve dans les cultures du bacille d'Éberth dans les milieux nutritifs ordinaires. On sait depuis longtemps que les cultures typhiques, en dehors de la présence des microbes, produisent sur les animaux de tels effets toxiques que les premiers expérimentateurs ont attribué la mort des animaux inoculés avec les cultures du bacille d'Éberth, non à une infection, mais à une véritable intoxication, due aux produits solubles déjà élaborés par les microbes et existants dans le liquide de culture injecté.

Cependant le poison typhique, à la différence de celui que l'on obtient avec les agents de maladies vraiment toxiques, comme le tétanos et la diphtérie, ne tue qu'à forte dose, et, pour cela, il est d'une action très inconstante, peu favorable à nos études.

Il faut proscrire la méthode des inoculations, dans le péritoine ou dans les veines, de grandes quantités de culture stérilisées ou filtrées, car, de cette façon, on obtient la mort des animaux de la même manière qu'on l'obtiendrait avec des cultures stérilisées ou filtrées d'autres microbes de différente nature.

J'ai donc pensé que, pour avoir une bonne toxine typhique, il fallait avant tout se procurer un virus très actif, et j'ai déjà indiqué le moyen le plus commode d'atteindre ce but : après une grande quantité de passages du virus typhique à travers le péritoine des cobayes, j'étais arrivé à obtenir des cultures d'une grande virulence, qui tuaient rapidement les animaux à petites doses, même avec des injections sous-cutanées. J'ai utilisé ce liquide toxique.

Vers la moitié de septembre 1892, j'ai ensemencé deux ballons de bouillon glycérimé à 20/0 avec quelques gouttes d'exsudat péritonéal provenant d'un cobayé, mort au bout de quelques heures d'infection typhique. Ces ballons ont été placés et gardés dans l'étuve à 37° pendant un mois environ, ensuite stérilisés et laissés en repos pendant huit mois à la température de la chambre. Puis on les a hermétiquement clos et mis à macérer pendant quelques jours à 60°.

Le liquide de culture s'était, après cela, divisé en deux couches parfaitement distinctes : la couche supérieure limpide, transparente et d'une couleur brunâtre ; l'autre, inférieure, composée d'une mince couche de microbes morts et déposés au fond.

Je décantai soigneusement le liquide de la couche supérieure, de manière à l'obtenir privé de tout germe, et j'en essayai le pouvoir toxique sur les animaux.

Ce pouvoir toxique ne provient pas seulement, on le sait, des sécrétions actives des microbes, mais aussi des matières qui restent dans leur cadavre et que la macération en peut extraire.

Cette idée, que M. Cantani<sup>1</sup> a énoncée le premier, a trouvé ensuite un appui dans les observations sur les toxines du tétanos et de la diphtérie, et dans les études de M. Buchner<sup>2</sup> sur les protéines.

Ainsi, on a vu que la quantité de poison dans les liquides de culture du tétanos et de la diphtérie ne croît pas proportionnellement au développement des microbes. Au commencement, c'est-à-dire au moment de la vie la plus active des microbes, le liquide de culture est acide et sans aucune propriété toxique. Plus tard, lorsque les bactéries ont cessé de se multiplier et se déposent au fond, le liquide devient alcalin et son pouvoir toxique augmente, dans une certaine mesure, avec la durée du séjour des microbes dans leur liquide de culture.

Cela démontre que la substance toxique se trouve renfermée dans le corps des microbes, et qu'elle en est extraite lentement par le liquide alcalin dans lequel ils sont à macérer.

La méthode que j'ai suivie pour obtenir la toxine typhique s'est inspirée de ce principe, et j'ai, de cette façon, évité tous les

1. Die Giftigkeit der Cholera bacillen (*Deutsche Med. Wochens.*, 1886, n° 45).

2. Über eiterregende Stoffe in Bacterienzelle (*Berliner Klin. Wochens.*, 1890, n° 30-47).

inconvenients que l'on rencontre en suivant les procédés habituels de filtration et de concentration des liquides de culture.

Cette toxine a été ensuite essayée sur le lapin, la souris, le cobaye et sur le singe.

#### ACTION DE LA TOXINE TYPHIQUE SUR LES LAPINS

Le virus typhique n'a agi sur les lapins que d'une manière très inconstante, et c'est pour cela que dans le cours de mes recherches précédentes sur la fièvre typhoïde expérimentale, j'ai été bientôt obligé d'éliminer ces animaux de mes études. Ce qui se vérifie pour le virus s'observe aussi pour la toxine typhique.

La sensibilité des lapins à l'action de la toxine typhique ne peut donner une idée de sa nature et de ses effets dans l'organisme. En employant des petits lapins de 700-1,000 grammes, la dose mortelle de ma toxine était ordinairement 1 c.c. par chaque 100 grammes du poids de l'animal.

Dans les cas mortels, peu après l'injection sous-cutanée de la toxine, les lapins commencent à avoir la respiration plus fréquente; environ une heure après, ils ne se tiennent plus sur leurs pattes, et il se manifeste une parésie générale plus ou moins marquée: l'œil, alors, est éteint, et la marche impossible.

Pendant cet état de malaise très fort qui dure d'habitude jusqu'à la mort, les animaux peuvent parfois se remettre, en apparence, de façon à sembler complètement rétablis; mais après trois, six ou douze heures, ils tombent dans des accès convulsifs, d'abord à longs intervalles, mais bientôt de plus en plus rapprochés, qui finissent par une mort subite.

Dans ces cas, la température du corps monte environ d'un degré pendant la première heure, mais pour redescendre ensuite avec rapidité et atteindre des limites d'autant plus basses qu'a été plus grande la dose de la toxine ou la durée de l'intoxication.

Dans un cas, un lapin est mort après trois heures seulement, sans que sa température ait eu le temps de descendre jusqu'à 38°, après avoir atteint, au commencement, de 40°6 à 41°6'; dans un autre cas, le lapin est mort au bout de dix-huit heures: sa température était descendue et s'était maintenue pendant quatre heures de suite entre 33° et 34°. Tant dans le premier cas que dans le second, on ne retrouve presque jamais rien de remar-

quable à l'autopsie : les organes abdominaux sont, en général, anémiés, et les masses intestinales, pâles et molles, ne laissent apparaître qu'un contenu quelque peu diarrhéique; on n'y trouve aucune des particularités intéressantes, telles que la congestion de la muqueuse, l'infiltration des plaques de Peyer, etc., etc., qui constituent, au contraire, les symptômes prédominants dans la fièvre typhoïde expérimentale des cobayes. Mais en laissant de côté cette absence, chez les lapins, des caractères qui rapprochent l'infection des cobayes de l'infection humaine, reste encore à éclaircir le problème de la quantité de poison. Quelques lapins succombent à une injection sous-cutanée de 1 c.c. pour 100 grammes de leur poids, tandis que d'autres, au contraire, même après l'inoculation de 3 et 4 c.c. 0/0, peuvent survivre longtemps. Entre autres, je citerai un lapin, de 770 grammes, qui avait reçu une injection de 8 c. c. de toxine, et ne mourut qu'après douze jours de cachexie, sans présenter aucune lésion anatomique, excepté une dénutrition et une anémie très remarquables de tous les organes.

Lorsque la dose de toxine n'est pas rapidement mortelle, la température du corps monte pendant la première journée jusqu'à deux degrés au-dessus de la normale, et dans les jours suivants revient, en oscillant lentement, à la température initiale. Cependant, l'animal paraît toujours malade, les oscillations thermiques sont très irrégulières et plus étendues que celles que l'on vérifie habituellement dans le lapin; plus tard, enfin, se manifestent des diarrhées intestinales qui sont la prémonition infaillible d'une mort prochaine.

Mais, malgré l'intérêt présenté par des phénomènes toxiques si évidents, l'étude et l'interprétation en restent assez difficiles, et j'ai cru mieux faire de recourir à d'autres espèces d'animaux.

#### ACTION DE LA TOXINE TYPHIQUE SUR LES SOURIS BLANCHES

Les souris blanches sont assez sensibles à l'action du poison typhique, mais, comme les lapins, elles présentent aussi quelquefois des différences individuelles assez remarquables.

La quantité minima mortelle de ma toxine, pour les souris du poids de 18-20 grammes, était de 1 c. c. sous la peau, et de 0,2 c. c. dans le péritoine, dose, comme l'on voit, relativement

énorme si on compare à la dose mortelle que nous avons trouvée nécessaire pour le lapin, et que nous verrons ensuite suffisante pour les cobayes et le singe. Déjà trente minutes après l'injection sous-cutanée de 1 c. c. de toxine, les souris commencent à manifester des signes évidents de souffrance, elles sont très excitables, et on ne peut les toucher sans déterminer des manifestations d'une sensibilité exagérée.

Peu à peu apparaît une forte météorisation abdominale accompagnée d'une grande sensibilité douloureuse locale; alors les animaux commencent à s'assoupir et restent sans mouvement avec les yeux fermés, se refroidissent rapidement, et meurent après quatre, huit, seize heures.

Si la dose du poison est supérieure à 1 c. c., on peut même obtenir la mort après une heure.

A l'autopsie on constate une légère hyperémie des viscères abdominaux; la rate est toujours beaucoup grossie et le péritoine est rempli d'une grande quantité d'exsudat limpide, sans cellules ni microbes.

L'inoculation intra-péritonéale est beaucoup plus grave, mais d'autant moins certaine. La dose de 1 c. c. tue en moins d'une heure, celle de 0,2 c. c. tue d'ordinaire en douze, vingt-quatre heures.

L'examen anatomique est à peu près identique dans les deux cas, et comme j'ai souvent observé des différences individuelles assez notables, je n'ai pas cru opportun de choisir l'intoxication de ces animaux comme exemple démonstratif du poison typhique.

#### ACTION DE LA TOXINE TYPHIQUE SUR LES COBAYES

Les cobayes sont effectivement les meilleurs réactifs tant pour le virus que pour le poison typhique.

La dose mortelle minima était 1,5 c. c. par 100 grammes du poids du corps par la voie sous-cutanée: c'est la dose mortelle pour les cobayes avec les toxines du vibrion aviaire, qui sont comptées parmi les plus actives et celles qui se prêtent le mieux à l'étude des intoxications bactériennes expérimentales.

De plus, à l'encontre de ce que l'on observe avec les lapins et les souris, l'action du poison typhique se manifeste chez les

cobayes avec une constance qui rend aisée l'étude minutieuse des effets de l'intensité et de la durée de l'intoxication sur la nature et l'extension des lésions anatomiques, qui présentent toujours, avec les cobayes, un type bien défini, entièrement identique à ce que l'on obtient dans la fièvre typhoïde de laboratoire.

Parmi les conséquences de l'intoxication typhique sur les cobayes, nous devons prendre en considération : 1° la période de la maladie ; 2° le cours de la température ; 3° les symptômes morbides ; 4° les lésions anatomiques ; 5° le mécanisme biologique de l'intoxication.

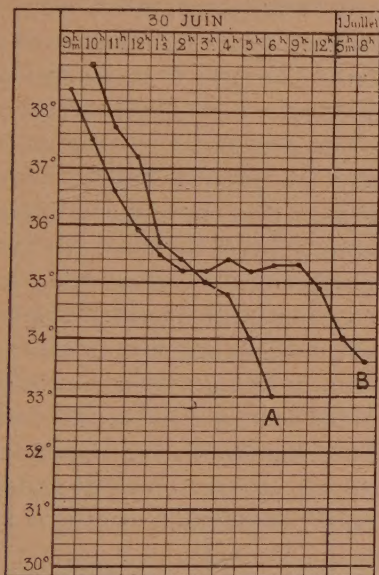
1° On entend, par période de la maladie provoquée par la toxine typhique, le laps de temps qui court entre le moment de l'inoculation et la mort de l'animal. Cette période est constamment et régulièrement en rapport immédiat avec la quantité du poison. La dose de 1,5 c. c. 0/0 du poids, injectée sous la peau, est la dose minima nécessaire pour provoquer la mort, laquelle survient dans les dix, vingt heures environ ; si cette dose vient à être portée à 2 0/0 et même plus, la mort de l'animal survient aussi en un temps inversement proportionnel, et on peut l'obtenir même en huit, dix heures.

L'inoculation dans le péritoine est au contraire beaucoup moins sûre : j'ai souvent trouvé qu'une dose de toxine, capable de tuer infailliblement les cobayes par la voie sous-cutanée, peut rester sans aucun effet lorsqu'on l'introduit dans la cavité péritonéale. Pour le moment, l'explication du phénomène nous échappe entièrement, bien que le même fait se retrouve (M. Roux) avec le poison de la diphtérie. C'est à cause de cela que j'ai toujours évité, dans le cours de mes expériences, les inoculations dans le péritoine et dans les veines, dont l'effet m'a paru quelque peu inconstant.

2° Au sujet de la température, je ne pourrais que répéter ce que j'ai déjà eu l'occasion de dire sur les courbes thermiques de l'infection typhique. L'introduction de la toxine typhique dans l'organisme des cobayes détermine immédiatement une hypothermie plus ou moins intense, plus ou moins rapide, selon la dose inoculée, mais régulière et procédant presque sans interruption jusqu'au moment de la mort. Tel est le cas plus commun, c'est-à-dire lorsqu'on injecte 1, 5 c.c. 0/0 du poids : la mort de l'animal survient en dix à seize heures.

Quand la dose est un peu moindre (1 0/0 du poids), la mort est plus tardive, vingt-quatre heures environ, et la ligne thermique, qui d'abord est une courbe rapidement décroissante, présente à des périodes déterminées quelques arrêts plus ou moins longs, suivis d'une nouvelle chute jusqu'au moment de la mort.

Donc, l'unique différence remarquable entre les courbes thermiques de l'infection et de l'intoxication typhiques consiste



I. Courbes thermiques de l'intoxication typhique chez les cobayes.

A. Cobaye de 270 grammes. A 10 heures du matin, injection sous-cutanée de 4,1 c.c. de toxine (1,5 c.c. par 100 grammes).

B. Cobaye de 350 grammes. A 9 heures du matin, injection sous-cutanée de 3,5 c.c. de toxine (1 0/0).

en ceci que, dans le premier cas, on observe toujours une hyperthermie initiale de courte durée, laquelle manque entièrement dans le second cas.

On peut aussi obtenir cette hyperthermie avec l'inoculation de la toxine seule, en ayant soin d'en employer de petites doses qui ne soient pas mortelles. Nous devons donc conclure que, dans l'infection typhique, les réactions thermiques représentent le pouvoir de résistance de l'organisme dans sa lutte contre la maladie.

Cette connaissance est donc d'un intérêt pratique très grand,

car elle est intimement liée au problème, aujourd'hui si discuté, de la thérapeutique antithermique.

3<sup>e</sup> Mais les symptômes morbides, que la toxine typhique détermine dans les cobayes, sont bien plus importants et caractéristiques que les modifications thermiques, car ces symptômes, étant tout à fait identiques à ceux que l'on observe dans l'infection typhique, reproduisent exactement, avec les lésions anatomiques, le tableau typique de la fièvre typhoïde expérimentale.

Ces signes morbides commencent environ une heure après l'inoculation du liquide toxique, et se manifestent par une forte météorisation abdominale, accompagnée d'une extrême sensibilité douloureuse. Les cobayes, d'habitude si vifs, se tiennent immobiles, courbent le dos, étalent les pattes et cherchent à éviter tout contact avec les objets environnants : leur expression est très singulière, car chacun de leurs mouvements, chaque regard de leurs yeux est marqué par cette grande et dominante préoccupation. En touchant même doucement leur ventre, ordinairement très distendu, on provoque toujours des signes d'une souffrance très grande ; l'introduction de la boule du thermomètre dans leur rectum est excessivement malaisée parce qu'elle provoque des douleurs insupportables ; les animaux sont excitables, ils commencent à se plaindre et tout en eux démontre que la cavité abdominale devient le siège d'une lésion importante.

Dans les cas à cours plus rapide, cet état initial d'extrême souffrance et d'excitabilité, qui dure de quatre à cinq heures, est suivi d'une période de calme relatif. Les animaux sont accablés et tiennent les yeux mi-clos, en proie à un tremblement presque continu ; le ventre est toujours fortement météorisé et très sensible ; par le rectum commence à sortir une mucosité jaunâtre et sanguinolente. Dans les cas de plus longue durée se manifeste une véritable diarrhée, parfois hémorragique, qui continue jusqu'à la mort.

Cette dernière est précédée par une troisième période dans laquelle les animaux sont complètement inertes et paralytiques, les yeux sont fermés et sans réaction cornéale, la respiration devient périodique, la météorisation abdominale disparaît peu à peu, les parois du ventre deviennent molles et moins sensibles ; de temps en temps le corps donne signe de vie par de violentes

contractions musculaires. Mais bientôt la paralysie générale envahit les muscles respiratoires, l'asphyxie apparaît et la mort est imminente.

4<sup>o</sup> L'autopsie, faite immédiatement après la mort, révèle dans la cavité péritonéale une quantité plus ou moins grande d'exsudat toujours riche en leucocytes, souvent aussi trouble et rempli de flocons fibrino-purulents. La rate présente ordinairement une certaine augmentation de volume ; elle est aussi congestionnée, friable, et recouverte, comme le foie, de minces mailles d'exsudat. Toute la masse intestinale est fortement congestionnée et hémorragique ; les parois de l'intestin grêle, en particulier, se montrent dilatées, efflanquées, amincies, et complètement infiltrées de sang ; le contenu apparaît, même par transparence, diarrhéique et sanguinolent ; la surface de la muqueuse est rouge, et les plaques lymphatiques infiltrées et congestionnées ressortent nettement par leur aspect et leur grandeur.

L'estomac, aussi, est fortement hyperémié et l'arborescence vasculaire de la grande courbure apparaît très congestionnée.

Les autres viscères abdominaux présentent aussi des lésions plus ou moins graves, et de la même nature. Les reins, d'habitude, ne sont en aucune façon atteints, mais les capsules surrénales présentent des congestions intenses et des taches ecchymotiques ; la vessie urinaire est toujours vide et rétrécie ; l'utérus est aussi le siège d'un processus congestif très grave et étendu.

Ordinairement, on ne trouve rien de remarquable dans la cavité du thorax ; mais, en examinant attentivement le larynx et la trachée, on observe souvent un léger état congestif, accompagné quelquefois d'une sécrétion muqueuse localisée presque exclusivement à la luvette.

Tel est dans son ensemble le tableau général de l'intoxication typique des cobayes. Comme on voit, il correspond au tableau que j'ai déjà décrit de la fièvre typhoïde dans ces mêmes animaux. Il présente la même symptomatologie et les mêmes lésions anatomiques ; donc, non seulement je dois considérer le liquide toxique, préparé par moi, comme représentant la véritable toxine typhique, mais je dois encore lui attribuer toutes les altérations qui jusqu'à présent étaient attribuées, en grande partie, à des localisations électives du même virus dans l'organisme.

## ACTION DE LA TOXINE TYPHIQUE SUR LE SINGE

Les effets observés sur les cobayes, si intéressants par les multiples analogies qu'ils présentent avec certaines formes cliniques et anatomiques de la fièvre typhoïde humaine, m'ont poussé naturellement à expérimenter la toxine typhique sur le singe.

Un petit singe cercopithèque de 910 grammes a été inoculé le 13 septembre, sous la peau du dos, avec 3 c. c. du liquide toxique. Environ trois heures après, la température rectale était montée de 39°4' à 40°8', et l'animal commença bientôt à manifester des signes évidents d'un grand malaise.

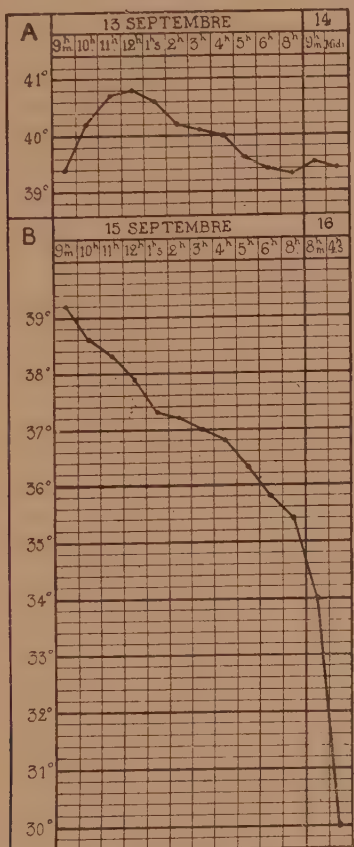
Ces signes consistaient en un accablement général : le singe, qui d'habitude était très vif, restait blotti dans un coin de la cage, avec la tête repliée sur lui-même, les bras entrelacés sur le ventre, et dans une attitude qui témoignait de troubles douloureux dans les viscères abdominaux. Pendant toute la journée il refusa la nourriture ordinaire, et ne manifesta qu'une soif très ardente qu'il cherchait à éteindre sans relâche. Il resta presque toujours immobile dans la même position, de laquelle il n'était dérangé que pendant le temps nécessaire pour prendre la température du rectum. Après quatre heures, celle-ci commença lentement à baisser, et au bout de huit, dix heures elle redevint à peu près normale : sa chute fut accompagnée par des évacuations muqueuses d'une couleur verdâtre.

L'accablement général et le refus de n'importe quelle substance alimentaire persistait le jour suivant (14 septembre), mais petit à petit le singe commençait à se remettre. Sa vivacité ordinaire reparaisait, et la température rectale redevenait tout à fait normale.

Deux jours après (15 septembre), tout symptôme de malaise ayant disparu, on fit à l'animal, à 9 heures du matin, une deuxième inoculation de 4 c. c. de toxine.

Bien que cette dose fût relativement peu supérieure à la première, la température du rectum descendit immédiatement ; le singe commença, au bout d'une heure, à donner des signes d'une grande agitation et d'un fort malaise. Sa tête cachée entre les hanches, les extrémités repliées et entre-croisées, il s'était

blotti dans un coin de la cage en poussant des plaintes, et en proie à un accablement inusité. L'évacuation de selles diarrhéiques verdâtres reparaissait plus abondante que d'habitude. A 2 heures de l'après-midi, l'animal était encore plus triste, affaibli, couché



II. Courbes thermiques de l'intoxication typhique dans le singe.

A. Singe de 910 grammes. Le 13 septembre, à 9 heures du matin, injection sous-cutanée de 3 c. c. de toxine.

B. Même singe. Le 15 septembre, à 9 heures du matin, injection sous-cutanée de 4 c. c. de toxine.

sur la paille; une lacrymation abondante survint, il refusa toute nourriture, et peu à peu il perdit la force de crier et de réagir à la prise de la température rectale, qui continua à baisser sans interruption jusqu'au soir.

Le matin suivant (16 septembre), je retrouvai le singe dans la

même situation, complètement étendu, avec les extrémités relâchées et les yeux entr'ouverts. Même en le molestant, on ne provoquait que d'imperceptibles gémissements; la température rectale était descendue à 35°8'.

Sur toute la surface de la peau du ventre, du thorax et sous les aisselles étaient apparues en très grand nombre des taches d'une couleur rouge hémorragique extraordinairement abondantes, surtout dans la région ombilicale et sur les côtés de la poitrine. Ces taches avaient la forme de roséoles, les unes assez petites et arrondies, les autres assez étendues, irrégulières et tout à fait semblables à des taches hémorragiques sous-cutanées.

Dans l'après-midi, les conditions générales devinrent encore plus difficiles, la température rectale marqua 30°, la respiration se fit lente et difficile (13 respirations à la minute). L'animal, tombé dans un état comateux profond, avait perdu entièrement connaissance, il agitait instinctivement les mains en les portant au ventre; l'expression de la figure indiquait encore la souffrance, mais il se refusait à faire entendre sa voix. Peu à peu la diarrhée apparut tachée de sang, l'état paralytique devint général et tout le corps resta inerte. La respiration se fit toujours plus variable jusqu'à 4 heures du soir, moment où les premiers symptômes de l'asphyxie apparurent, suivis bientôt par la mort. A l'autopsie, faite immédiatement, on trouva les altérations suivantes : cavité abdominale manquant de liquide, rate très grosse et hyperémique, intestins quelque peu congestionnés avec contenu diarrhéique, glandes mésentériques très hypertrophiées et rougies, capsules surrénales fort congestionnées et hémorragiques. On observa, aussi, quelques tubercules miliaires dans les poumons et dans les glandes lymphatiques péritonéales.

La description assez détaillée que je viens de faire des effets de la toxine typhique sur les animaux me permet d'être bref sur le mécanisme biologique de cette intoxication. Il est évident que le poison typhique, introduit ou formé dans l'organisme, outre qu'il agit sur les centres nerveux, comme d'autres poisons, manifeste une influence spéciale et presque élective sur toutes les muqueuses en général, et sur la muqueuse intestinale en particulier.

Cette influence élective du poison typhique, entièrement

indépendante de toute action des microbes, n'a été, jusqu'à présent, signalée que par M. *Silvestrini*<sup>1</sup>, dans ses recherches sur l'infection typhique des lapins, après lesquelles l'auteur émet cette idée « qu'on ne doit pas considérer la tuméfaction des plaques de Peyer comme une localisation primitive du virus, mais comme l'expression locale d'un processus général ». Ces lésions sont donc caractéristiques, car elles représentent la note prédominante de l'infection et de l'intoxication typhiques ; outre cela elles ont un grand intérêt, comme étant le point de départ de nos recherches, afin de remonter par analogie à l'interprétation du tableau clinique et anatomique de la fièvre typhoïde humaine. Il est donc très important de les étudier avec soin.

## II

### LA TOXINE TYPHIQUE ET LES LÉSIONS INTESTINALES DE LA FIÈVRE TYPHOÏDE EXPÉRIMENTALE

Ce processus intestinal si grave et si strictement lié à l'intoxication typhique doit, avant tout, être distingué de toutes les autres formes congestives vulgaires qui se manifestent chez les cobayes succombant à l'infection par d'autres microbes plus ou moins toxiques. Il présente, néanmoins, beaucoup de points de contact avec cet ensemble de lésions intestinales qu'a décrites M. *Charrin*<sup>2</sup>, chez les lapins empoisonnés avec les toxines du *B. pyocyannique*.

Disons d'abord que le tableau abdominal classique de l'infection typhique n'est pas toujours aussi facile à reproduire que les contractions tétaniques ou les paralysies diphtériques.

J'ai déjà insisté, ailleurs, sur les précautions minutieuses dont il faut s'entourer, lorsqu'on s'applique à étudier une maladie qu'il est si difficile de reproduire chez les animaux, avec tous ses caractères les plus marquants.

Vis-à-vis du poison typhique, les différences individuelles jouent un rôle assez considérable.

Le tableau abdominal de la fièvre typhoïde présente une échelle d'intensité assez variable, et c'est seulement quand on a

1. Studi sull' etiologia dell' ileotifo (*Rivista gen. italiana di Clin. medica*, 1892, n° 14 et suivant).

2. *La maladie pyocyannique*. Paris, 1889, page 78.

multiplié les expériences qu'on peut se faire une idée exacte de la maladie.

Parfois une seule expérience peut tout démontrer, mais fort souvent elle ne dit que bien peu; et il faut choisir dans le nombre celles qui se prêtent le mieux à l'examen de la question particulière qu'on étudie. C'est ce que j'ai fait pour celle des lésions intestinales, pour lesquelles j'ai choisi les pièces anatomiques les mieux appropriées pour la solution du problème particulier que j'avais en vue.

Immédiatement après la mort de l'animal, les segments d'intestin grêle étaient coupés dans toute leur épaisseur et placés de suite, entiers, dans le liquide fixateur de M. Mayer <sup>1</sup> dans lequel ils restaient pendant vingt-quatre heures. Après cela on les lavait dans l'eau distillée, et ensuite on les plongeait pendant deux autres jours, d'abord dans l'alcool à 70°, puis dans l'alcool absolu.

Lorsque la déshydratation de la pièce pouvait être considérée comme parfaite, on la plongeait pendant vingt-quatre heures dans le xylol, pendant douze heures à l'étuve à 55° dans un mélange à parties égales de xylol et de paraffine; enfin, pendant vingt-quatre heures dans la paraffine pure à 55°.

Lorsqu'il s'agissait de coupes complètes et très minces d'intestin, leur coloration demandait l'emploi de la méthode suivante, assez délicate, que j'ai apprise dans le laboratoire de M. Metchnikoff. Les coupes faites par séries sont placées dans un bain d'eau tiède à la surface de laquelle elles s'étaient entièrement; ensuite on les prend avec une bande de papier brouillard passée au-dessous, et on les attache sur le verre couvre-objets préalablement enduit d'eau albumineuse et glycérinée (procédés de M. A. Borrel <sup>2</sup>). On traite ensuite la préparation, d'abord par l'alcool absolu qui la déshydrate, et enfin avec le xylol qui en dissout et en enlève complètement la paraffine. Après cela on peut colorer les coupes sur le verre à froid avec

1. La solution fixatrice de M. Mayer a la composition suivante :

Bichlorure de mercure. . . . .	grammes	7
Acide acétique . . . . .	c. c.	2
Eau distillée. . . . .	grammes	100

2. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1893, n° 8, page 601.

les méthodes les plus appropriées. Les colorations que j'ai employées de préférence ont été : le bleu phéniqué de méthylène et de toluidine au tannin (procédé de *M. Nicolle*)<sup>1</sup>, la solution triacide de Ehrlich et l'hématéine. Ces méthodes de coloration présentent chacune ses avantages, selon que l'on veut étudier dans les préparations les lésions anatomiques, les modifications cellulaires, ou la façon de se comporter des microbes.

Ce qui frappe avant tout, dans ces préparations, ce sont les graves altérations de la muqueuse. L'épithélium prismatique qui recouvre la surface intestinale est presque complètement détaché. Ce détachement ne s'accomplit pas de cellule à cellule, mais généralement par grands lambeaux, qui se trouvent répandus irrégulièrement dans la cavité de l'intestin, et conservent quelquefois la forme des villosités dont ils se sont détachés en les laissant complètement à nu.

Le noyau des cellules épithéliales est bien conservé, leur *plateau* apparaît normal, le protoplasma ne présente pas ces formations vacuolaires qui indiquent, dans beaucoup de processus aigus intestinaux (choléra), un état de dégénérescence et, avec celui-ci, la mort de l'élément. La seule lésion qu'on retrouve constante, dans ces couches cellulaires qui abandonnent en masse leur siège anatomique, consiste dans une destruction plus ou moins avancée de leur base d'insertion. Celle-ci apparaît presque toujours effilée, enflée, œdémateuse ou corrodée entièrement : il semble presque que la couche épithéliale se soit détachée de la villosité parce qu'a été détruite la partie par laquelle elle devait lui rester adhérente. C'est un processus *sui generis*, évidemment d'origine toxique, et qui présente beaucoup d'analogie avec certaines formes d'entérite desquamative ou ulcéreuse dues à certains empoisonnements (arsenic, sublimé, muscarine, etc.) Les cellules épithéliales de la muqueuse semblent donc très sensibles à l'action du poison typhique.

Après le détachement *in toto* de l'épithélium, les villosités intestinales restent tout à fait nues et représentées par le seul vaisseau lymphatique central revêtu du tissu adénoïde. (Voir fig. 1, pl. VIII.) L'endothélium du lymphatique apparaît intact, et son cul-de-sac est occupé par de grands leucocytes mononu-

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1892, page 783.

cléaires avec noyau vésiculaire gros, à réseau chromatique bien distinct et à protoplasma excessivement abondant.

Ces grands éléments contiennent, outre le noyau, des détritits de leucocytes et de globules sanguins. Aux côtés du lymphatique central, il y a des capillaires lymphatiques remplis de leucocytes mononucléaires à protoplasma de moyenne grandeur, avec noyau bien colorable, et quelque peu différents de ceux qu'on trouve dans le cul-de-sac.

Les espaces lymphatiques périglandulaires ont conservé intact leur épithélium et ne contiennent pas de leucocytes.

A la base des villosités on trouve un certain nombre de leucocytes polynucléaires avec des granulations.

Ces éléments caractéristiques, dont on ne connaît encore bien ni les origines ni la signification, mais qu'on trouve assez rarement dans les conditions normales, proviennent probablement du sang, car on en trouve aussi dans les capillaires sanguins, d'où ils se répandent à la base de la villosité sans jamais la dépasser.

Les glandes de Lieberkühn, qui viennent déboucher entre les bases des villosités, présentent aussi des altérations notables. Le corps glandulaire est généralement intact et l'épithélium apparaît aussi intact ; mais, au débouché, là où ce dernier se rattache au restant de l'épithélium intestinal, il commence à présenter les mêmes altérations que celui-ci, et apparaît, en grande partie, détaché ou détruit.

Cette grande résistance de l'épithélium des cryptes de Lieberkühn, en comparaison de sa fragilité au débouché de la glande et en dehors, est peut-être explicable par le fait que les cellules placées dans ces culs-de-sac doivent être considérées, selon M. Bizzozzero, comme des cellules jeunes (en active karyokinèse), tandis que l'épithélium des villosités, au contraire, serait constitué par des éléments plus adultes (sans karyokinèse) et pour cela moins résistants.

Tous les capillaires veineux de la muqueuse et de la sous-muqueuse sont remplis de sang ; l'endothélium est en bon état, et dans le sang on ne trouve pas de leucocytes. La leucocytose qui se vérifie sur les parois est due aux mononucléaires provenant, peut-être, des follicules renfermés dans les mêmes parois : en effet, la leucocytose due au sang serait constituée de préférence par les polynucléaires.

Les artères mésentériques sont peu remplies de sang, et apparaissent tout à fait normales, tandis que les veines sont énormément dilatées et remplies ; l'état congestif très avancé des tissus n'est donc qu'un phénomène de stase veineuse.

Un intérêt très grand s'attache aussi à l'étude de cette énorme infiltration qui a lieu dans les plaques de Peyer, dont l'hypertrophie caractéristique est considérée, par beaucoup de savants, comme pathognomonique de l'infection typhique.

Dans un processus morbide à cours aussi rapide que celui qu'on obtient chez les animaux, il est clair qu'on ne peut pas obtenir les remarquables tuméfactions des plaques lymphatiques intestinales, qui, dans la fièvre typhoïde humaine, doivent toujours être considérées comme la suite d'un processus de durée beaucoup plus longue.

Toutefois, même dans l'intoxication ou dans l'infection expérimentale, les plaques de Peyer sont toujours plus ou moins grossies et congestionnées : cela démontre qu'elles ressentent d'une façon spéciale l'influence toxique du poison typhique, et dans beaucoup de cas l'augmentation de leur volume est si notable, leur infiltration et leur état congestif sont tellement avancés, qu'il en résulte des analogies tout à fait évidentes avec la première période de l'infiltration et de la dilatation des glandes intestinales dans la fièvre typhoïde humaine.

J'ai eu l'occasion d'observer, sur quelques cobayes morts par infection ou intoxication typhique, des exemples vraiment splendides de cette hypertrophie des glandes de Peyer, et j'en ai fait l'examen microscopique avec les mêmes méthodes que pour l'examen de l'intestin. Dans la figure 2, planche VIII, est dessinée, à un faible grossissement, la coupe transversale dans toute son épaisseur d'un intestin grêle de cobaye mort à la suite d'une injection sous-cutanée de toxine typhique. La coupe passe justement par le centre d'une plaque de Peyer énormément hypertrophiée, dans laquelle on voit une accumulation immense de cellules lymphatiques dans l'intérieur des follicules, et aussi une vaste infiltration cellulaire périfolliculaire qui a envahi toute la sous-muqueuse. Il n'y a presque plus trace de la structure anatomique typique de la plaque lymphatique simplement hypertrophique, et l'infiltration apparaît tellement étendue que l'on dirait une véritable infiltration purulente.

Si l'animal avait survécu un certain nombre d'heures à une lésion si étendue, celle-ci serait sûrement devenue le siège d'un processus suppuratif, et il se serait formé un de ces abcès folliculaires caractéristiques qui, après leur rupture, constituent ces ulcères cratériformes, spéciaux à la fièvre typhoïde humaine.

Il est assez rare de retrouver, dans ces infiltrations des plaques de Peyer, les bacilles typhiques, quand les cobayes ont succombé à l'injection du virus. Les bacilles, même s'ils sont injectés sous la peau, se multiplient en grand nombre dans le péritoine, où ils provoquent une vaste desquamation des cellules endothéliales, mais ils ne dépassent presque jamais le tissu connectif sous-endothélial, et, en conséquence, on ne les trouve que par exception dans la membrane musculaire.

Au contraire, ils s'accumulent en quantité énorme dans les ganglions lymphatiques, dans les espaces lymphatiques et dans les mailles du tissu connectif du mésentère, où on les voit groupés en petits foyers comme dans la rate de l'homme, et beaucoup sont logés à l'intérieur des cellules lymphatiques. On ne les retrouve jamais dans les vaisseaux sanguins.

Ils présentent un aspect toujours uniforme : ils sont courts, gros, réguliers, entassés, et on peut facilement les différencier du *B. coli* qui se signale par ses dimensions plus grandes et plus irrégulières, et surtout par sa plus grande longueur. On trouve habituellement le *B. coli* sur toutes les parois de l'intestin, surtout à l'intérieur des glandes, et dans la sous-muqueuse.

Du côté du péritoine, il échappe à l'observation, mais on le met en évidence avec les cultures.

4. Le bacille typhique employé dans mes récentes recherches présentait en effet ces caractères, qui s'accordent avec ceux signalés par d'autres observateurs. Cependant, je dois faire remarquer qu'en d'autres occasions j'ai trouvé des bacilles typhiques, d'une authenticité bien établie, lesquels, même après avoir atteint le plus haut degré de virulence, se développaient, dans les cobayes, sous forme de petits bâtons, beaucoup plus allongés et plus minces que ceux dont je viens de faire la description. Les formes plus courtes et plus grosses ont, d'ordinaire, la tendance à se réunir dans les tissus par petits foyers, en prenant cette apparence bien connue des localisations spléniques dans la fièvre typhoïde humaine. Les formes plus allongées et plus minces sont au contraire distribuées irrégulièrement, comme dans l'infection à type septico-hémique. Par là et par d'autres caractères morphologiques et culturels apparaît évidente l'existence de nombreuses variétés du bacille d'Eberth. Cette idée est d'autant plus admissible maintenant, que l'existence de multiples variétés dans les espèces microbiques a été déjà démontrée par M. Foà pour les pneumocoques, par M. Pasquale pour les streptocoques, par M. Péré pour le *B. coli*, et par beaucoup d'autres observateurs pour les vibrions cholériques.

Cette émigration du *B. coli* de l'intestin, qui s'observe souvent dans l'infection typhique, est encore plus fréquente dans l'intoxication typhique. Lorsque les animaux meurent par suite de l'inoculation des toxines, on le retrouve en grande quantité dans l'exsudat péritonéal, surtout si la mort est arrivée après vingt-quatre heures.

Nous reviendrons, dans le chapitre suivant, sur les causes immédiates de ces infections secondaires par le *B. coli*; mais, en attendant, nous pouvons conclure des observations faites jusqu'à présent que : *La fièvre typhoïde expérimentale est de préférence une infection du système lymphatique, et que c'est seulement à la toxine produite par le développement des bacilles d'Eberth que sont dues, en très grande partie, toutes ces lésions anatomiques intestinales qui étaient considérées jusqu'à présent comme autant de localisations du virus.*

### III

#### LES LÉSIONS TOXIQUES ET LE RÔLE DES MICROBES INTESTINAUX DANS LA FIÈVRE TYPHOÏDE EXPÉRIMENTALE

L'action très énergique et presque élective, exercée par le poison typhique sur la muqueuse intestinale, nous explique, en grande partie, les phénomènes locaux qu'on observe dans le tractus digestif, pendant la fièvre typhoïde humaine et expérimentale.

Il est désormais établi que cette entérite desquamative aiguë, que tous les auteurs ont décrite dans la première, et que j'ai signalée dans la seconde, est due en grande partie à la toxine typhique qui, en se formant dans l'organisme, agit sur l'intestin en déterminant les classiques lésions de la fièvre typhoïde.

Toutefois, cette nouvelle connaissance ne suffit pas pour éclaircir entièrement cet ensemble de phénomènes si complexes et si graves qui se développent dans l'intestin pendant la période de l'entérite typhique. A l'autopsie des animaux morts soit par infection, soit par intoxication typhique, nous trouvons toujours un contenu entérique liquide, diarrhéique, et le plus souvent très hémorragique.

Si nous examinons ce liquide, non seulement nous y observons en quantité extraordinaire tous les produits de la desquamation, mais nous y trouvons, aussi, une quantité innombrable

de microbes, dépassant tout ce qu'il est possible de constater dans le contenu entérique d'un animal sain.

Cela signifie que, pendant l'infection et l'intoxication typhique, les microbes augmentent de nombre dans l'intestin. Il est donc intéressant de connaître leur provenance, leur façon d'agir et leur fonction éventuelle dans le processus intestinal.

Quelques recherches préliminaires m'avaient déjà démontré que la flore microbique intestinale est constituée par une unique espèce, morphologiquement non différenciable par les cultures, du *bacterium coli* ou du bacille d'Eberth.

Pour identifier rapidement les deux espèces, j'ai eu recours aux cultures sur plaque de gélatine à 20/0 de lactose, bleuie avec de la teinture aqueuse de tournesol. Cette méthode, déjà proposée par M. Laruelle<sup>1</sup>, pour reconnaître le *B. coli*, et conseillée ensuite aussi par M. Wurtz<sup>2</sup> pour la diagnose différentielle du bacille typhique, m'a rendu des services excellents pendant toutes mes recherches. Chaque fois que je faisais l'autopsie d'un cobaye mort par infection ou par intoxication typhique, j'isolais une anse de l'intestin grêle, je la stérilisais à l'extérieur avec un fer rouge; j'en perforais ensuite la paroi et, avec une grosse anse de platine, j'en retirais toujours la même quantité de liquide diarrhéique que je délayais exactement dans un tube contenant 5 centimètres cubes de bouillon stérilisé.

Je prélevais un peu de ce bouillon avec une pipette Pasteur, et j'en faisais des cultures sur plaques, en laissant tomber une, deux, trois gouttes dans chaque tube de gélatine au tournesol.

La pratique prolongée de cette technique manuelle finit par rendre très exact le rapport numérique entre le contenu des microbes intestinaux et la quantité des colonies qui se sont développées dans les cultures sur plaques.

Ces cultures étaient laissées à la température de la chambre, et après trente-six ou quarante-huit heures, elles présentaient déjà un développement assez avancé des colonies.

Il est notoire que, sur cette gélatine lactosée, les colonies du *B. coli* se développent en rougissant fortement le milieu nutritif

1. Études bactériologiques sur les péritonites par perforation (*La Cellule*, vol. V, 1889).

2. Sur deux caractères différentiels entre le *B. d'Eberth* et le *B. coli comm.* (*Société de Biologie*, 12 déc. 1891).

autour d'elles, tandis que les colonies du bacille typhique ne modifient en rien la coloration. En conséquence, un simple examen de ces cultures permet d'évaluer non seulement la quantité de microbes contenus dans le liquide intestinal, mais aussi leur proportion dans le mélange.

J'ai dit, plus haut, que cette méthode m'a rendu des services importants, mais c'est toujours à la condition que ces cultures soient faites en grand nombre.

Le rougissement de la gélatine, quand s'y développe l'espèce coliforme, est habituellement assez rapide, et, si les colonies sont très nombreuses, déjà après vingt-quatre heures toute la plaque a perdu sa couleur; mais quelquefois le rougissement se produit seulement après quelques jours, ou partiellement, ou même pas du tout. Cela dépend, peut-être, d'une plus ou moins grande énergie fermentative des microbes, laquelle, comme je l'ai très souvent vérifié et, comme je veux le dire tout de suite, n'a aucun rapport constant avec leur degré de virulence.

On peut, en effet, trouver des variétés de *B. coli* douées d'un faible pouvoir fermentatif et d'une grande virulence, et réciproquement. Les récentes et remarquables recherches de M. Péré<sup>1</sup> sur cette question ont déjà démontré l'existence de variétés de *B. coli* morphologiquement identiques, mais tout à fait distinctes par leurs propriétés bio-chimiques.

Donc, lorsque nous nous trouvons en présence de colonies qui rougissent la gélatine, nous pourrions conclure sûrement au *B. coli*, mais si l'apparence de la gélatine ne se modifie pas, on ne pourra pas, non plus, conclure à la diagnose du bacille typhique. Dans ces cas, qui du reste sont une exception très rare, il est nécessaire d'avoir recours à l'ensemencement des colonies dans les bouillons lactosés de M. Perdrrix, qui sont aujourd'hui les réactifs les plus sensibles et les plus rapides pour différencier les deux microbes.

Les résultats de ces recherches, que j'ai pratiquées systématiquement pendant tout le cours de mes expériences sur le contenu intestinal d'un grand nombre de cobayes morts d'infection ou d'intoxication, peuvent se résumer ainsi.

1. Contribution à la biologie du *B. coli* et du *B. typhique* (*Annales de l'Ins. Pasteur*, 1892, p. 512).

L'intestin grêle des cobayes normaux a un contenu très modéré de microbes, et ceux-ci sont généralement représentés par l'espèce coliforme<sup>2</sup> : je n'ai que bien rarement trouvé d'autres espèces; souvent les plaques restaient tout à fait stériles à cause de la trop forte dilution, pour le petit nombre de microbesensemencés. En même temps que les cultures sur plaques dans la gélatine lactosée, je faisais toujours des ensemencements en trait sur gélose avec la matière intestinale; ces cultures, aussi, étaient presque toujours des cultures pures de *B. coli* dans les cobayes normaux, et me donnaient déjà, après douze heures, une idée du contenu en germes de l'intestin.

On obtient des résultats tout à fait différents lorsque l'on cultive le contenu du gros intestin. Ici, la multiplicité des espèces microbiennes est plus notable<sup>1</sup>; sur toutes prédomine le *B. coli*, mais on obtient toujours des colonies de coccus ou d'autres bactéries facilement différenciables de ceux d'Escherich.

Généralement, le *B. coli* de l'intestin normal a un faible pouvoir fermentatif, et il est rare que les plaques de gélatine lactosée tournent complètement au rouge : le virage est lent, et après quelques jours reste stationnaire. En conséquence, si le nombre des colonies n'est pas très grand, la culture plate présente seulement des taches rouges sur fond bleu. Mais les résultats changent complètement lorsque, au lieu de cultiver le contenu intestinal des cobayes normaux, on cultive le contenu intestinal des cobayes morts par infection ou par intoxication typhique. Dans ce cas, la quantité des colonies est tellement énorme qu'elles échappent à tout calcul, et cette différence numérique est si constante qu'on pourrait en évaluer approximativement la proportion à 1 pour 1,000. Il suffit d'avoir fait quelquefois ces recherches comparatives pour avoir une idée exacte de cette règle qui ne souffre jamais d'exception.

Donc, dans le contenu diarrhéique de cobayes morts par infection ou intoxication typhique aiguë, la quantité des microbes intestinaux augmente en proportion considérable.

Il faut noter que ces recherches ont été faites presque

1. Selon M. de Giara, l'intestin grêle des cobayes contient environ de 1,300 à 1,500 microbes, et le gros intestin de 2,000 à 3,000 microbes pour chaque décigramme de matière. Voir : Del quantitativo di batteri nel contenuto del tubo gastro-enterico, etc. (*Giornale Internaz. delle Scienze Mediche*, vol. X, 1888.)

toujours aussitôt après la mort des animaux et, par suite, on doit exclure d'une façon absolue la possibilité d'une multiplication *post mortem*.

Mais les changements de la flore intestinale ne se bornent pas à la seule augmentation numérique. Les microbes qui se développent dans la gélatine se trouvent toujours, dans ces cas, à l'état de culture pure, et sont représentés exclusivement par l'espèce coliforme.

Je ne me rappelle pas avoir jamais trouvé, dans les cultures en plaques faites avec le contenu intestinal diarrhéique, une seule colonie qui n'appartint pas au *B. coli*. Les bacilles d'Escherich dominent d'une façon absolue, ce qui fait croire que les bacilles typhiques ne pénètrent pas en quantités appréciables dans le canal digestif, même inoculés dans le péritoine, tandis que le *B. coli*, dans ces circonstances, tend à se multiplier et à *rester seul dans l'intestin*.

Cette dernière circonstance est d'autant plus remarquable que les préparations microscopiques du contenu intestinal normal démontrent, au contraire, la présence d'autres espèces microbiennes, dont quelques-unes sont même susceptibles de prendre la coloration de Gram; et que, de plus, les cultures en gélatine du contenu intestinal des cobayes normaux, tout en montrant la prédominance absolue de l'espèce coliforme, sont bien loin de la présenter d'une façon si exclusive.

Il se reproduit ici le phénomène déjà observé par M. E. Fränkel<sup>1</sup> et M. Barbacci<sup>2</sup> dans les exsudats des péritonites par perforation, et par Schmidt<sup>3</sup> dans les selles des nourrissons, c'est-à-dire que l'examen microscopique révèle la présence de nombreuses formes microbiennes, tandis que les cultures ne démontrent que le seul développement du *B. coli*.

M. E. Fränkel, qui n'employait pas la méthode de Gram, attribuait une origine unique aux différentes formes qu'il trouvait dans les préparations microscopiques, et les considérait comme différents types de développement du *B. coli*. M. Schmidt, qui se servait, au contraire, de la méthode de Gram, arriva à la

1. Zur Ätiologie der Peritonitis (*Münchener Med. Wochens*, 1890, n° 2).

2. Sulla etiologia e patogenesi della peritonite da perforazione (*Lo Sperimentale*, 1893, Fas IV).

3. Zur Kenntniss der Bacterien der Säuglingsfäces (*Wiener klin. Woch.*, 1892, n° 45).

conclusion qu'en présence des matières grasses dans les selles des nourrissons, le *B. coli* pouvait résister à la décoloration par cette méthode de Gram. M. Barbacci n'accepte pas cette identification si peu d'accord avec les résultats de nos connaissances actuelles, et tandis qu'il insiste, d'un côté, sur la présence de différentes espèces microbiennes bien distinctes dans les péritonites par perforation, il reconnaît, d'un autre côté, qu'avec les cultures on obtient seulement des colonies du *B. coli*. Malgré les très nombreuses recherches faites *in vitro* et sur l'animal vivant afin d'obtenir l'explication d'un phénomène si intéressant, M. Barbacci ne se prononça pas d'une manière définitive.

Dans mon cas, la question était, sans doute, beaucoup moins complexe : si l'on peut toujours obtenir de l'intestin des cobayes normaux différentes espèces microbiennes, tandis que, de l'intestin des cobayes morts d'intoxication typhique, on ne réussit à isoler que la seule et unique espèce coliforme, bien que, même dans ce cas, l'examen microscopique révèle la présence d'autres espèces différentes, cela indique très probablement que ces dernières doivent être considérées comme mortes.

Il n'est pas facile d'expliquer en quelle façon la multiplication excessive du *B. coli* peut nuire au développement des autres microbes intestinaux, jusqu'à les anéantir complètement.

Quelques expériences faites *in vitro* ne m'ont donné aucun éclaircissement sur ce sujet, puisque j'ai trouvé que, même dans le liquide de vieilles cultures filtrées du *B. coli*, quelques microbes, isolés de l'intestin, peuvent se développer assez bien. Mais on peut supposer que les matières toxiques formées par le *B. coli* dans l'intestin sont différentes de celles qui se forment dans les cultures. Le siège si spécifiquement électif du *B. coli* dans l'intestin de tous les mammifères dépose en effet dans ce sens, que cette espèce microbique y trouve des conditions exceptionnellement favorables à sa vie et au développement complet de toutes ses propriétés biologiques.

Enfin, quelle que soit la façon dont s'effectue une sélection si rapide et complète parmi les différents microbes intestinaux, il reste toutefois la constatation de cette intéressante loi biologique, c'est-à-dire que, dans les infections ou dans les intoxications typhiques, l'intestin grêle, qui représente la localisation par excellence des principales lésions anatomiques de la mala-

die, est le siège d'une multiplication si grande du *B. coli*, que cette dernière espèce finit par y dominer à elle seule au détriment de toutes les autres. Cette circonstance est non seulement en accord avec ce qu'on vérifie dans la fièvre typhoïde humaine, pendant laquelle on ne réussit, d'ordinaire, à retrouver dans les selles que le seul *B. coli*<sup>1</sup>, mais elle présente en outre, sous un aspect différent, beaucoup d'analogies avec les récentes observations de MM. *Gabritchevsky* et *Maljutin*<sup>2</sup> sur les selles des cholériques, puisqu'il a été observé que, dans l'entérite cholérique aussi, le développement excessif des vibrions dans l'intestin exerce une action bactéricide si puissante sur les autres microbes intestinaux, surtout pour le *B. coli*, que les vibrions et leurs toxines finissent par rester dominateurs absolus du canal digestif.

Une autre question strictement connexe à la multiplication exagérée du *bacterium coli* dans l'intestin, regarde son pouvoir pathogène. De nombreuses observations, déjà très souvent confirmées dans la pathologie humaine, ont prouvé que chaque fois qu'il existe une lésion intestinale (diarrhée, entérite, etc.), le *B. coli* se présente avec une virulence supérieure à celle qu'il possède ordinairement.

On comprend *a priori* l'importance de ce fait, surtout dans la pathologie de la fièvre typhoïde, en présence des lésions du canal intestinal. Il fallait donc le préciser exactement.

Bien que le *B. coli* ait été considéré, pendant longtemps, comme un simple *saprophyte* de l'intestin, néanmoins on lui a reconnu récemment un certain degré de pouvoir pathogène.

J'ai isolé plusieurs fois le *B. coli* de l'intestin des cobayes normaux : son injection dans le péritoine est parfois mortelle ; son inoculation sous-cutanée, si elle est abondante, détermine des foyers suppuratifs qui, avec le temps, tuent les animaux, par cachexie. Cependant, dans ce cas, il y a une question de dose, et j'ai trouvé, en effet, que l'inoculation sous-cutanée d'une culture entière de vingt-quatre heures sur gélose n'est pas habituellement mortelle : tout au plus elle provoque quelques petites

1. Voir : RODET et G. ROUX. — Bacille d'Eberth et bacillus coli. (*Arch. de méd. expér.*, 1892, n° 3, pag. 347.)

2. Ueber die bacterienfeindlichen Eigenschaften des Cholera-bacillus. (*Centralblatt für Bakt. u. Par.* 1893, n° 24, p. 780.)

zones d'infiltration qui guérissent toujours avec le temps.

Après avoir reconnu cette dose minima qui ne tuait jamais les animaux, j'ai fait une longue série de recherches comparatives pour voir la façon d'agir du *B. coli* retiré des intestins des cobayes morts par infection ou intoxication typhique.

Pour cela, en outre des cultures sur plaque de gélatine que je faisais à chaque autopsie, pour observer les variations numériques des microbes intestinaux, je pratiquais régulièrement des cultures en trait sur gélose, et, le jour suivant, après les avoir délayées dans quelques centimètres cubes de bouillon, je les inoculais sous la peau d'autant de cobayes.

Les résultats de toutes ces recherches, sauf quelques exceptions, ont été parfaitement d'accord : le *B. coli* obtenu de l'intestin des animaux morts par entérite typhique était toujours très virulent, et tuait les cobayes inoculés après douze, vingt-quatre heures, en déterminant régulièrement le tableau de l'infection générale à forme septicohémique.

Une démonstration encore plus claire de l'augmentation de virulence du *B. coli* dans l'intoxication typhique, m'a été fournie par le singe dont j'ai déjà parlé à propos de la toxine typhique.

Deux jours avant l'inoculation sous-cutanée de la toxine, j'ai fait sur ce singe, avec une grosse canule de Malassez, un entéroclisme de 20 centimètres cubes d'eau stérilisée. Après l'avoir retenue mécaniquement, pendant quelques moments, dans l'intestin, je reçus cette eau dans un récipient stérilisé, et j'en isolai le *B. coli* dont elle s'était abondamment souillée.

A la dose d'une culture entière de vingt-quatre heures sur gélose, ce *B. coli* était tout à fait inoffensif sous la peau des cobayes.

Après la mort de l'animal, j'isolai de nouveau le *B. coli* du contenu rectal du cadavre, et cette fois je le trouvai doué, comme d'habitude, d'une grande virulence : il tuait les cobayes en douze heures, par inoculation sous-cutanée.

Désormais aucun doute ne pouvait plus subsister : Dans l'intestin des animaux morts par infection ou intoxication typhique, le *B. coli* non seulement se multiplie d'une façon extraordinaire, mais il gagne une virulence que d'habitude il n'a pas.

Ce nouveau facteur, qui vient régulièrement compliquer d'une façon imprévue le tableau de la fièvre typhoïde expérimentale, et peut-être même celui de la fièvre typhoïde humaine, mérite

donc d'être étudié dans ses causes et dans ses conséquences. Dans le cours de l'entérite typhique typique, nous devons en effet considérer : 1<sup>o</sup> l'action spécifique du poison sur la muqueuse intestinale ; 2<sup>o</sup> les altérations anatomiques consécutives de cette muqueuse ; 3<sup>o</sup> la multiplication et la virulence du *B. coli*.

Que les graves altérations de la muqueuse intestinale soient dues exclusivement au poison typhique, c'est ce qu'ont démontré les examens anatomiques comparatifs des diverses muqueuses des cobayes morts par intoxication, et d'autres expériences, qui se rattachent à la nature et au mécanisme d'action de la toxine, le démontreront à leur temps. Il restait donc à décider si le *B. coli* augmente de virulence parce qu'il se trouve soudainement dans l'intérieur d'un organe déjà altéré, ou bien parce que la toxine typhique éliminée par la muqueuse intestinale exalte son pouvoir pathogène ; cette dernière hypothèse était rendue plus probable par une récente observation très intéressante de M. Roncali<sup>1</sup>, qui a trouvé que quelques microbes atténués, parmi lesquels le bacille d'Eberth, peuvent regagner leur virulence primitive lorsqu'ils sont restés quelque temps à végéter dans la toxine tétanique, même après avoir subi plusieurs passages successifs, faits pour les dépouiller complètement des dernières traces de tétanotoxine.

Quelques recherches faites par moi, en cultivant de différentes façons le *B. coli* atténué dans de vieilles cultures typhiques, filtrées ou stérilisées à 58°, avec ou sans addition de peptone, etc., ne m'ont jamais amené à aucun résultat. Le *B. coli*, cultivé de cette façon, s'est toujours montré inefficace, même dans des inoculations successives sur les animaux. Mais, comme il faut toujours se méfier des résultats qu'on obtient en dehors de l'organisme, j'ai pensé qu'il valait mieux expérimenter sur l'animal vivant.

Parmi les nombreuses muqueuses sur lesquelles s'exerce d'une façon presque élective l'action du poison typhique, j'ai mentionné plus haut la muqueuse de l'utérus.

Lorsqu'un cobaye succombe à l'infection ou à l'inoculation typhique, on trouve d'ordinaire les cornes et le corps de l'utérus

1. Dell' azione del veleno del bacillus tetani, etc. (*Annali dell' Istit. d'Igiene della R. Università di Roma*, 1893, page 138.)

si excessivement tuméfiés, congestionnés et œdémateux, qu'on comprend facilement que la muqueuse de l'utérus doit ressentir la même influence toxique qui s'exerce sur la muqueuse intestinale. Cependant, la muqueuse de l'utérus, malgré les signes évidents d'un processus congestif, ne présente aucune de ces altérations si graves et répandues, qui se retrouvent dans la muqueuse de l'intestin.

La cavité de l'utérus présentait donc les plus grands avantages pour l'étude exclusive de l'influence éventuelle du poison typhique, qui aurait pu s'exercer sur le *B. coli*, à travers les parois de l'organe, très altérées.

Dans la fièvre typhoïde expérimentale, l'élimination des bacilles d'Eberth par la surface de l'utérus ne se produit presque jamais, ou se produit en quantité tout à fait négligeable. De plus, la cavité utérine des cobayes, même adultes, est ordinairement stérile en microbes. Mais, pour plus de garantie, j'ai toujours employé dans ces expériences de petites femelles encore intactes. Après avoir préparé la culture en bouillon d'un *B. coli* déjà devenu notoirement inactif, je perforais l'hymen de deux jeunes cobayes avec une canule stérilisée, et j'injectais dans la cavité utérine 2 c. c. de la culture. Tout de suite après, dans un des deux animaux, j'inoculais sous la peau une dose mortelle de toxine ou de virus typhique, et je laissais l'autre comme témoin. Après huit, dix, vingt-quatre heures, le cobaye, qui avait reçu l'inoculation de la toxine ou du virus, succombait invariablement d'intoxication ou d'infection en présentant le tableau typique abdominal déjà décrit, et l'habituel processus congestif très grave de l'utérus. Alors je tuais aussi le cobaye témoin, et, des deux utérus, je reprenais le *B. coli* dont je faisais directement deux cultures en trait sur gélose que, le jour suivant, j'inoculais sous la peau d'autant de cobayes.

Les résultats de ces dernières inoculations étaient toujours tels qu'il ne peut subsister aucun doute sur la question que je m'étais proposée. Les cobayes qui recevaient le *B. coli* retiré de l'utérus des animaux témoins restaient en vie; les autres, qui étaient inoculés avec le *B. coli* retiré de l'utérus des cobayes morts par intoxication ou infection typhique, mouraient le plus souvent en dix, douze heures, à la suite d'une infection généralisée du *B. coli*.

Il est donc établi que, dans la fièvre typhoïde expérimentale, le *B. coli* exalte sa propre virulence, plus par effet de la toxine qui agit ou s'élimine par la surface des muqueuses très congestionnées, que par suite de la gravité exceptionnelle des lésions toxiques de ces muqueuses. Comme d'un côté le poison typhique donne la virulence et avec elle le pouvoir pathogène à une quantité innombrable de microbes d'habitude inoffensifs, et comme de l'autre il détruit l'épithélium de la muqueuse intestinale qui, tout le long du canal digestif, forme l'unique barrière de défense contre eux, il est naturel de se demander quelles peuvent être, pour l'organisme malade, les conséquences de ces deux facteurs qui surgissent en même temps pour compliquer un processus morbide déjà par lui-même si grave et complexe.

La réponse à cette dernière partie de la question n'est pas difficile. Tous ceux qui ont eu occasion de faire des expériences sur l'infection typhique expérimentale ou des recherches sur les cadavres des typhiques, ont toujours rencontré le *B. coli* qui, après avoir traversé les parois intestinales devenues peu résistantes à leur passage, s'était localisé et développé en différentes parties de l'organisme. Ces infections secondaires du *B. coli*, dont je me suis déjà occupé dans mon précédent mémoire, sont si connues, même dans la pathologie humaine, que je crois tout à fait inutile d'y insister plus longtemps pour en démontrer leurs rapports directs avec les lésions toxiques intestinales.

Je dois, cependant, répéter ici que l'émigration du *B. coli* de l'intestin se manifeste non seulement chez les animaux qui meurent d'infection, mais encore chez ceux qu'on a tués par l'injection des toxines. Ainsi, dans un cas comme dans l'autre, je retrouvais le *B. coli* dans le péritoine, dans la rate, et quelquefois aussi dans le sang. Rien de moins surprenant, du moment que le *B. coli* émigre en conséquence de la disparition de l'épithélium intestinal, et que celle-ci se produit aussi bien dans l'infection que dans l'intoxication typhique.

Les infections secondaires par le *B. coli* représentent donc la dernière phase d'un processus grave, sur l'évolution duquel nos recherches ont établi seulement des points de départ.

Pour cela, il est désirable que d'autres investigations en élargissent et en complètent la connaissance. Nous verrons, plus tard, quelles analogies peuvent être établies entre ces notions

au sujet de la fièvre typhoïde expérimentale et | l'évolution de la fièvre typhoïde humaine.

#### IV

##### LA VACCINATION CONTRE LA FIÈVRE TYPHOÏDE EXPÉRIMENTALE ET SES EFFETS SUR LES MICROBES INTESTINAUX

La grande affinité morphologique du bacille d'*Eberth* avec l'espèce coliforme a été l'objet, en ces derniers temps, d'un grand mouvement scientifique, destiné à en fixer la signification par rapport à l'étiologie de la fièvre typhoïde.

Dans une autre occasion, j'apporterai aussi une contribution d'observations personnelles sur cette question.

Pour le moment, comme l'activité simultanée de ces deux microbes, dans la fièvre typhoïde expérimentale, soulève la question de leur éventuelle et réciproque action infective, toxique et immunisante, nous nous arrêterons à cette dernière propriété en renvoyant le reste à plus tard.

Les premiers résultats de la vaccination réciproque des cobayes contre le bacille typhique et le *B. coli* remontent à mes premières recherches sur la fièvre typhoïde.

Dans le mois de septembre 1892, à l'Institut Pasteur, je montrais les premiers cobayes vaccinés contre le *B. coli* et ayant résisté à l'inoculation dans le péritoine du *B. typhique*, et les premiers cobayes vaccinés contre ce dernier, ayant résisté à l'inoculation intrapéritonéale du *B. coli*. La méthode de vaccination avait été dans les deux cas tout à fait identique à celle que j'ai déjà décrite contre la fièvre typhoïde expérimentale.

J'indique cette date, non à titre de priorité scientifique, mais seulement comme souvenir personnel et sans insister sur la valeur téléologique du résultat, puisque, peu de mois plus tard, MM. *Cesaris Demel* et *Orlandi*<sup>1</sup>, sans connaître mes recherches, faisaient la même constatation dans le laboratoire de M. Foà, à Turin.

Le fait que la vaccination contre le bacille d'*Eberth* préserve aussi contre les bacilles d'*Escherich* nous fait rechercher ce que

1. Contributo allo studio della equivalenza biologica dei prodotti del *B. coli* et del *B. typhi* (*Gazzetta Medica di Torino*, n° 14, 1893).

deviennent les bactéries coliformes de l'intestin, dans les cobayes vaccinés contre la fièvre typhoïde. L'idée de l'immunité contre une espèce déterminée de microbes implique nécessairement la destruction de cette dernière dans l'organisme vacciné, et, comme dans l'intestin des cobayes normaux le *B. coli* se trouve toujours en quantité plus ou moins grande, on se demande comment il se comporte lorsque les cobayes sont soumis à la vaccination.

On comprend *a priori* que cette question doit être plurilatérale. Les bactéries coliformes, qui se trouvent dans l'intestin d'un animal qui devient vacciné, entrent en relations multiples avec les sucs digestifs, avec les cellules et les autres microbes du canal intestinal, et il faudrait faire l'étude systématique de toutes ces influences.

Cela pourra être fait plus tard, mais, en attendant, nous relevons à l'autopsie d'un cobaye ou d'un lapin bien vaccinés contre le virus typhique, une circonstance de grand intérêt, c'est l'excessive diminution ou la disparition de tous les microbes du contenu de l'intestin grêle.

Ce résultat est constant pour tous les cobayes et les lapins vaccinés, mais il est aussi susceptible de nombreuses variations, selon que la vaccination a été pratiquée plus ou moins bien et selon la sensibilité des différents animaux.

La vaccination contre la fièvre typhoïde expérimentale consiste dans l'inoculation sous la peau des animaux, et pendant plusieurs jours consécutifs, d'une certaine dose de produits toxiques du bacille d'*Eberth*.

Dans les cultures ordinaires stérilisées, telles qu'on les emploie pour ces vaccinations, la dose des matières toxiques est toujours assez faible, de façon que les cobayes et les lapins puissent en recevoir, dans l'espace de peu de jours, une quantité relativement assez abondante, sans autre conséquence qu'un amaigrissement plus ou moins prononcé.

Cet amaigrissement, dans quelques cas, peut être excessif, dans d'autres à peine évident, et cela démontre que la tolérance du poison, *ceteris paribus*, est variable même pour des animaux de la même espèce.

Dans le premier cas, en effet, on peut aussi observer à longue échéance la mort par cachexie, dans le second on obtient tout de suite une solide vaccination.

Cependant l'injection du poison typhique, même à doses très subdivisées, dans les animaux excessivement sensibles, se fait bientôt ressentir sur l'intestin, qui devient hyperémique et congestionné. Peu à peu la muqueuse intestinale commence à subir les premiers phénomènes de l'influence presque élective de la toxine typhique. Cela n'est pas tout à fait indifférent pour le *B. coli* intestinal, qui commence alors à se multiplier, devient virulent, traverse les parois intestinales et émigre dans l'organisme.

Cette auto-infection par le *B. coli*, dans les animaux qu'on vaccine, ne conduit pas ordinairement à la mort, peut-être en raison de leur immunité déjà acquise en partie, mais détermine de graves localisations suppuratives, surtout dans les cavités séreuses.

Cependant ces exsudations purulentes peuvent aussi guérir complètement et, dans ce cas, même après longtemps, on retrouve dans les cavités séreuses des résidus d'anciens exsudats en partie déjà organisés, adhérents à la surface de quelques viscères et complètement amicrobiques. D'autres fois, l'animal peut périr en peu de jours avec tous les symptômes et les caractères anatomiques des véritables pleurésies, péricardites, ou péritonites chroniques par *B. coli*.

C'est de cette façon que doivent être expliqués quelques insuccès obtenus pendant ou après les vaccinations sur beaucoup d'animaux, c'est-à-dire lorsque, sans cause appréciable, quelques-uns d'eux tombent malades et meurent en présentant des pleurésies, des péricardites ou des péritonites purulentes.

Le *B. coli* retiré des exsudats de cette nature, où on le trouve à l'état de pureté, est habituellement très actif, ce qui signifie que l'animal est, en ces cas, vacciné contre l'infection générale, et succombe seulement à la gravité du processus local.

Au contraire, lorsque la vaccination procède régulièrement, de façon que du côté de l'intestin il y ait tolérance parfaite au poison, sans qu'il se produise pour cela aucun processus réactif, le *B. coli* ne se multiplie et ne s'exalte pas, mais au contraire il tend à disparaître peu à peu, très probablement à cause des cellules de la muqueuse intestinale qui peuvent compter, on le sait, parmi les éléments phagocytaires fixes des plus actifs.

Que cette destruction soit causée plutôt par les cellules que

par d'autres influences éventuelles, c'est ce que prouve ce fait, qu'on l'observe seulement dans les parties du canal digestif dont les parois sont très rapprochées entre elles, et dans lesquelles l'arrêt momentané des matières permet le contact immédiat entre les cellules et les microbes.

En quelques cas, cette auto-stérilisation du canal digestif, surtout le long de l'intestin grêle, est partielle, mais le plus souvent est tout à fait complète; dans ce cas même, en enlevant avec la spatule de platine de larges traits de muqueuse entérique qu'onensemence directement, aucun microorganisme ne se développe : tous les microbes ont complètement disparu.

Là où la grosseur du canal intestinal, comme par exemple dans le gros intestin, permet le séjour de beaucoup de matières, la quantité de microbes intestinaux, représentés surtout par le *B. coli*, est, au contraire, très grande.

En ce cas, il est clair que l'épaisseur même du contenu intestinal, (outre le fait déjà révélé par M. de Giaxa<sup>1</sup> sur le contenu plus grand de germes dans le gros intestin en comparaison de l'intestin grêle) dérobe mécaniquement le corps des microbes au contact des cellules.

Cependant, entre ces deux extrêmes de la vaccination, on comprend facilement qu'il puisse y avoir des conditions intermédiaires par suite desquelles l'intestin peut réagir plus ou moins légèrement, pendant ou peu après la vaccination, en manifestant des phénomènes hyperémiques ou congestifs. Ces phénomènes ne présentent aucune gravité, ne sont suivis par aucune complication, mais ils rendent impossible la destruction des microbes intestinaux; à cause des conditions anormales du canal digestif, ces derniers se trouvent au contraire augmentés de nombre.

Mais ce sont là des questions sur lesquelles une vraie série d'observations systématiques pourra seule nous éclairer.

## V

### RÉSUMÉ

Les recherches qui ont été l'objet de ce second mémoire ont eu, comme principal but, de mettre mieux en évidence les rap-

1. Loc. cit.

ports entre le virus typhique et les altérations caractéristiques de la fièvre typhoïde humaine et expérimentale.

Les principaux résultats qui ont été obtenus peuvent se résumer dans les conclusions suivantes :

1° Le bacille d'Eberth, lorsqu'il a pénétré dans l'organisme, produit une substance toxique très active, laquelle agit sur les centres nerveux en déterminant un empoisonnement rapide qui amène la mort par *collapsus* ;

2° En dehors des phénomènes toxiques généraux, communs à beaucoup d'autres poisons, la toxine typhique exerce une action très énergique sur toutes les muqueuses en général et sur la muqueuse entérique en particulier, en provoquant de violentes congestions veineuses, infiltrations embryonnaires étendues, hypertrophies des plaques de Peyer, œdèmes aigus des cellules épithéliales, détachement complet de l'épithélium intestinal, processus inflammatoire, hémorragies et ulcérations le long du canal digestif, surtout dans l'intestin grêle ;

3° Toutes ces altérations anatomiques, dont le canal digestif devient le siège, et qui se développent sous l'influence du poison typhique, indépendamment de la présence des microbes, sont accompagnées par des phénomènes objectifs présentant les analogies les plus étroites avec le tableau symptomatologique de la fièvre typhoïde humaine ;

4° Dans la fièvre typhoïde expérimentale, comme dans la fièvre typhoïde humaine, les bacilles d'Eberth ne se trouvent pas ordinairement dans le contenu intestinal ; cela confirme d'ailleurs le fait que les lésions intestinales inhérentes à cette maladie ont une origine exclusivement toxique, et cela enlève toute valeur à la vieille idée selon laquelle la fièvre typhoïde devrait être considérée comme un processus infectieux d'origine, et à localisations intestinales ;

5° Cette absence des bacilles d'Eberth dans l'intestin de l'homme ou des animaux s'explique par les deux raisons suivantes : 1° parce que la fièvre typhoïde n'est qu'une *infection du système lymphatique* : c'est là seulement que le virus se localise de préférence, se multiplie et fabrique son poison ; 2° parce que, dès que ce poison fait ressentir son influence sur les parois intestinales en déterminant le commencement des graves altérations anatomiques et fonctionnelles déjà décrites, le *B. coli* de l'intestin

devient pathogène, se multiplie en proportion extraordinaire et tend à rester le seul représentant de la flore intestinale en anéantissant toutes les autres espèces microbiques ;

6° Etant données les graves altérations anatomiques toxiques de la muqueuse intestinale, cet énorme développement que prend le *B. coli*, sous l'influence de la toxine typhique, constitue la cause première de ces infections et localisations secondaires par le *B. coli*, si connues et fréquentes dans la fièvre typhoïde humaine et expérimentale ;

7° Si cependant le *B. coli* émigre de l'intestin sous l'influence de la toxine typhique, lorsque l'animal est en partie déjà vacciné contre la fièvre typhoïde, il ne détermine jamais l'infection générale, mais, selon le degré d'immunité acquise par l'organisme, développe, dans les séreuses, des processus inflammatoires chroniques, localisés, plus ou moins graves, qui peuvent finir par la guérison ;

8° Les animaux vaccinés contre le bacille typhique le sont aussi contre le *bacterium coli* ; ce dernier commence alors à disparaître même de l'intestin où il se trouve normalement, étant peut-être détruit par les mêmes cellules épithéliales de la muqueuse, qui en ce cas se comporteraient envers lui comme toute autre cellule phagocytaire de l'organisme vacciné.

*Erratum.* — Une omission typographique, à la page 701 de mon article *Les Vibrions des eaux* (ces *Annales*, octobre 1892), rend peu claire la méthode de préparation des milieux nutritifs employés pour l'isolement des vibrions : je crois nécessaire d'éclaircir mieux la technique de cette méthode.

On prépare un mélange nutritif concentré avec la composition suivante : gélatine, 20 grammes ; peptone sèche, 10 grammes ; chlorure sodique, 10 grammes ; nitrate potassique, 1 gramme ; eau distillée, jusqu'au volume total de 100 c. c.

Cette gélatine concentrée peut se conserver en grande quantité dans des tubes stérilisés. On choisit la proportion de 10-20 c. c. à peu près pour chaque tube ; dose suffisante pour transformer 100-200 c. c. d'eau à analyser, en solutions nutritives de la composition suivante : gélatine, 2 gr. ; peptone, 1 gr. ; chlorure sodique, 1 gr. ; nitrate potassique, 0<sup>gr</sup>,10 ; eau, 100 grammes.

---

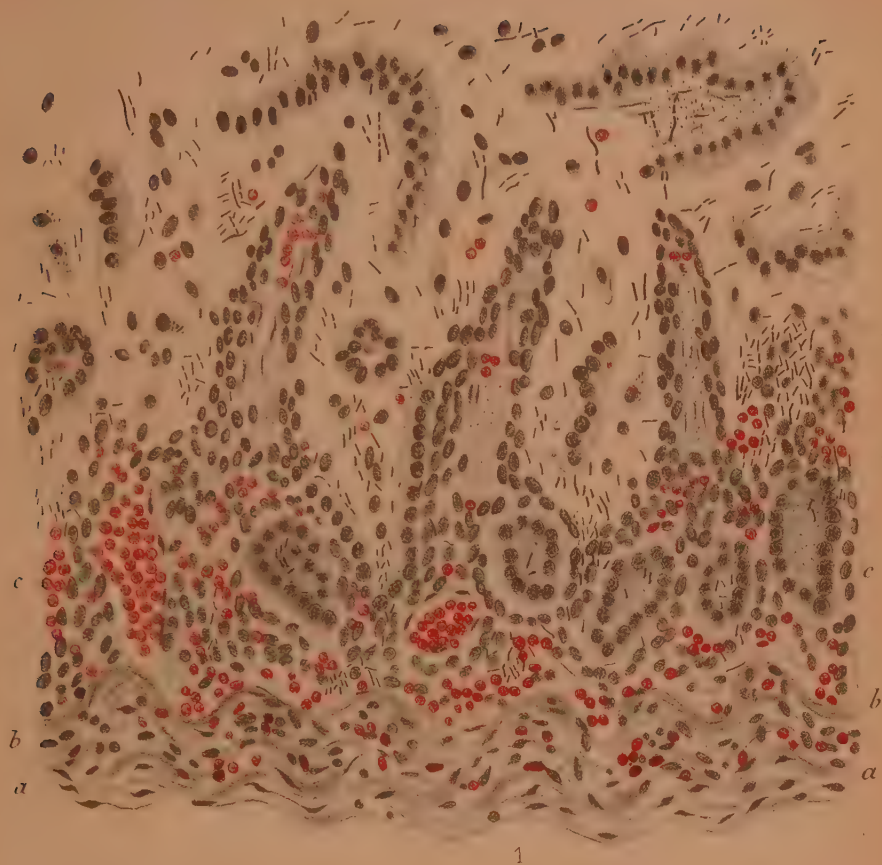
## EXPLICATION DE LA PLANCHE VIII

*Fig. I.* — Coupe transversale de l'intestin grêle d'un cobaye mort d'intoxication typhique aiguë (injection de toxine). Durcissement par le bichlorure de mercure; coloration sur lamelle par la méthode de M. Nicolle (bleu de Kühne et tannin). Gross. 900/1.

- a.* Sous-muqueuse;
- b.* *Muscularis mucosæ* infiltrée par des globules sanguins;
- c.* Muqueuse contenant les cryptes de Lieberkuhn, infiltrée par des globules sanguins et présentant des petits foyers de *B. coli*. On voit le même *B. coli* dans les culs-de-sac des glandes intestinales, qui présentent l'épithélium intact. Les villosités de la muqueuse sont presque complètement dénuées de leur épithélium prismatique, dont on voit des lambeaux détachés, dans le milieu de la cavité intestinale. Celle-ci est aussi encombrée par des microbes, des globules blancs, des cellules épithéliales, etc.

*Fig. II.* — Coupe transversale d'une plaque de Peyer chez un cobaye mort d'intoxication typhique aiguë (injection de toxine). Même durcissement et même coloration Gross. 115/1.

- a.* Couche musculaire interne et externe;
  - b.* Sous-muqueuse énormément infiltrée;
  - c.* *Muscularis mucosæ*;
  - d.* Vaisseaux sanguins dilatés;
  - e.* Follicules lymphatiques hypertrophiques;
  - f.* Couche glandulaire de la muqueuse;
  - g.* Épithélium de la muqueuse en partie détruit.
-



G. Sanarelli del.

V. Roussel lith.



# RECHERCHES COMPARATIVES SUR LES PSEUDOTUBERCULOSES BACILLAIRES ET UNE NOUVELLE ESPÈCE DE PSEUDOTUBERCULOSE

PAR LE D<sup>r</sup> HUGO PREISZ

Chef de l'Institut bactériologique d'État à Budapest.

---

En 1891, j'ai publié dans le *Journal de médecine vétérinaire et de zootechnie*, en collaboration avec M. L. Guinard, chef des travaux de M. Arloing, à Lyon, un travail sur un cas de pseudotuberculose observé chez le mouton. C'était le premier cas observé chez cette espèce animale, et cette pseudotuberculose était causée par un microorganisme bien différent du bacille de Koch. Nous pensions que ce microbe était identique à ceux décrits par les auteurs français, allemands et italiens comme agents de pseudotuberculose ; je soupçonnais, cependant, à raison de certaines propriétés de ce bacille, que notre pseudotuberculose était probablement différente de celles décrites jusqu'à présent.

Nous disions qu'on ne pourrait déterminer cette pseudotuberculose et la distinguer des autres que par une étude comparative, anatomique et bactériologique, des diverses pseudotuberculosés connues, d'autant plus que les descriptions ne permettent pas toujours de se faire une idée nette de la maladie et surtout du bacille causal. En conséquence, pour classer notre pseudotuberculose du mouton, il aurait fallu connaître toutes les autres, tâche d'autant plus difficile, qu'on ne savait même pas jusqu'à quel point les différentes pseudotuberculosés connues étaient différentes ou semblables.

Cette circonstance m'a déterminé à étudier comparativement la bactériologie et l'anatomie de quelques espèces de pseudotuberculose trouvées en différents endroits par différentes personnes. Rappelons les principaux auteurs qui se sont occupés de cette question.

*Historique.* — Les premiers qui aient parlé de pseudotuberculose sont MM. Malassez et Vignal. Ils ont provoqué leur « tuberculose zoogléique » en inoculant aux animaux un nodule caséeux provenant du bras d'un enfant, qui était mort de méningite tuberculeuse. Les tubercules provoqués de cette manière ressemblèrent tout à fait aux tubercules véritables ; ils présentèrent même des cellules épithélioïdes et géantes. Celles-ci ne contenaient pas le bacille de Koch, mais des zooglées formées par des cocci isolés ou en chaînette, ne se colorant que par le bleu de méthylène. Des inoculations réitérées finirent par donner des tubercules à bacilles de Koch, et MM. Malassez et Vignal, à la suite de ces résultats, supposèrent que leur coccus en zooglée n'était qu'une forme de transition de ce bacille. Quelques auteurs français ont admis la même hypothèse.

Ainsi, M. Chantemesse (1887) a provoqué la pseudotuberculose par l'inoculation d'une ouate ayant servi à filtrer de l'air provenant d'une salle de tuberculeux ; MM. Grancher et Ledoux-Lebard (1889) ont obtenu leur pseudotuberculose par l'inoculation aux animaux du produit de filtration d'une culture pure du bacille de Koch à travers une couche de 15 centimètres de terre. Dans les tubercules ainsi provoqués, ces auteurs ont trouvé un coccus semblable à celui de MM. Malassez et Vignal ; ils ont, en plus, obtenu des cultures. Ce coccus, après quelques passages sur le cobaye, ne forme plus de zooglées. D'ailleurs, MM. Grancher et Ledoux-Lebard considèrent leur pseudotuberculose comme identique à celle de Malassez et Vignal, et à celle de Charrin et Roger, dont je vais m'occuper.

Je réunis, sans m'inquiéter de l'ordre chronologique, les recherches des auteurs précédents, parce qu'on voit que la matière, avec laquelle ils ont provoqué la pseudotuberculose, semblait avoir une relation avec la véritable tuberculose : nodule caséeux d'un enfant prétendu tuberculeux, air expiré par des phtisiques, produit de filtration du bacille de Koch. Naturellement, nous n'attachons pas grande importance à ces coïncidences, et nous concluons, simplement, que le bacille de la pseudotuberculose est très répandu.

MM. Charrin et Roger (1888) ont trouvé dans le foie et la rate d'un cobaye des nodules tuberculiformes, provoquant chez le lapin, le cobaye et la souris, des nodules semblables, avec des

bacilles qui ne forment pas de zooglyphes et se colorent avec peine. Ils nommèrent cette maladie pseudotuberculose bacillaire, et ne l'identifièrent pas avec celle de Malassez et Vignal, ou celle d'Eberth.

Un peu plus tard, M. Dor trouvait une pseudotuberculose chez le lapin et en cultivait le bacille.

Parmi les auteurs français, M. Nocard a eu le mérite, non seulement d'observer quelques cas de pseudotuberculose, mais de comparer entre elles les pseudotuberculoses de différents auteurs. Il a ainsi jeté un peu de lumière sur cette question jusqu'alors embrouillée.

M. Nocard (1885) a observé dans une basse-cour une pseudotuberculose causée par des bacilles semblables à ceux de Malassez et Vignal.

Quatre années plus tard, il a provoqué chez un cobaye, avec le jetage d'une vache suspecte de tuberculose, une pseudotuberculose, dont les bacilles semblaient identiques à ceux de Malassez et Vignal. La vache abattue ne montra ni tuberculose ni pseudotuberculose.

Enfin, en 1889, M. Nocard a relaté chez des lapins une épizootie, qui ressemblait anatomiquement et bactériologiquement à celle qu'il avait observée auparavant. A cette occasion, il fit des recherches comparatives, à la suite desquelles il conclut que la pseudotuberculose observée par lui-même chez les lapins, celle provenant de la vache, ainsi que celle de Charrin-Roger et de Dor, sont identiques, c'est-à-dire sont causées par le même microorganisme. Si nous nous rappelons que MM. Grancher et Ledoux-Lebard ont reconnu l'identité de leur bacille avec celui de MM. Charrin et Roger, nous pouvons conclure que toutes ces pseudotuberculoses peuvent être identiques.

A peu près en même temps, M. Courmont publiait plusieurs mémoires sur une sorte de pseudotuberculose, dont le bacille diffère par plusieurs points de ceux que nous venons de rappeler; M. Courmont partit des lésions tuberculeuses de la plèvre d'une vache, ne contenant pas de bacille de Koch.

Il est important de dire de suite que l'inoculation de ces tubercules de la vache engendrait chez le lapin des lésions tuberculeuses, mais tuait les cobayes sans donner de tubercules, tandis que la culture du bacille en question, âgée de vingt jours,

causait chez les cobayes et les rats blancs une tuberculose typique, mais tuait les lapins sans lésions tuberculeuses.

Parmi les travaux allemands, ceux de M. Eberth et M. Pfeiffer méritent d'être mentionnés.

M. Eberth (1886) observa chez un lapin, mort spontanément, des nodules tuberculiformes dans le foie, la rate et les reins, au centre desquels se trouvaient des amas de bacilles se colorant seulement par la méthode de Löffler, courts et épais, formant parfois des chaînettes comme ceux de MM. Malassez et Vignal. M. Eberth croit son cas identique à celui des deux auteurs ci-dessus nommés, mais il ne cultiva pas son bacille.

Presque en même temps que M. Nocard, M. Pfeiffer (1888) publiait une brochure sur la pseudotuberculose des rongeurs, dans laquelle il décrit une maladie tuberculiforme chez un cheval suspect de morve; l'inoculation des lésions pathologiques provoqua chez le cobaye une pseudotuberculose; comme il ne réussit à trouver, dans les organes altérés de ce cheval, ni les bacilles de la morve ni ceux de la pseudotuberculose, il faut se demander si la maladie du cheval n'était pas la morve, et si le bacille de la pseudotuberculose n'était pas simplement mêlé par hasard à la matière morveuse inoculée, ou si la maladie du cheval n'était pas elle-même la pseudotuberculose; mais cette seconde hypothèse n'est pas vraisemblable, car les tentatives d'inoculation qu'a faites M. Pfeiffer pour infecter des chevaux avec son bacille restèrent sans résultats. Le bacille de cette pseudotuberculose (de Pfeiffer) étant assez bien étudié, nous en reparlerons pour le comparer aux autres. Remarquons simplement, ici, que M. Pfeiffer identifie son bacille avec celui d'Eberth et de Malassez et Vignal.

M. Zagari (1889) a trouvé chez quatre cobayes des lésions tuberculiformes avec bacilles en chaînettes et en zoogléas au centre; par l'inoculation en séries, la maladie devenait plus trainante, et, au lieu d'offrir des tubercules gros et rares, elle présentait des nodules plus nombreux et plus petits. M. Zagari pense que son cas est identique à ceux de MM. Malassez et Vignal, Charrin-Roger, Eberth et Manfredi.

M. Parietti (1890) a obtenu la pseudotuberculose en inoculant du lait dans un tout autre but à des cobayes; le bacille contenu dans ces pseudotubercules, qu'il cultiva, était plus court et

« peut-être » plus mince que le bacille de Koch, il formait des chaînettes et se décolorait par la méthode de Gram.

Dans ces derniers temps, M. Hayem a observé chez l'homme un cas de pseudotuberculose, caractérisé pendant la vie par une gastroentérite, par du vomissement, de la diarrhée, un état algide et par de la pigmentation de la peau. A l'autopsie, M. Hayem a noté de la dégénérescence caséuse des glandes surrénales et de la tuméfaction des glandes solitaires de l'intestin. Les divers organes, le sang, les glandes surrénales, les plaques de Peyer ont fourni un bacille, qui, selon Hayem, est identique avec ceux qu'ont décrits MM. Nocard, Charrin et Roger.

Quelque temps auparavant, MM. du Cazal et Vaillard publiaient un autre cas humain, caractérisé par la présence de nodules de la grosseur d'un grain de mil à celle d'une lentille, sur le péri-toine et dans le pancréas. Ces nodules contenaient un court bacille.

Ces cas nous prouvent que la pseudotuberculose, quelle qu'en soit la nature, existe chez l'homme. Il est donc probable, *a priori*, que certains cas de tuberculose, qu'on regarde comme étant tuberculeux ou au moins comme tuberculeux « sans bacilles », appartiennent au groupe des pseudotuberculosés.

M. Legrain a publié une note sur une pseudotuberculose obtenue chez le lapin par l'inoculation du crachat d'un phthisique. Le bacille trouvé dans ces pseudotubercules était court, se décolorait par la méthode de Gram, prenait la couleur aux deux bouts mieux qu'au milieu, et liquéfiait la gélatine. Avec de fortes doses, ce bacille tuait les animaux par septicémie, mais les petites doses donnaient au lapin une pseudotuberculose. Ce cas est bien semblable à celui qu'ont décrit MM. du Cazal et Vaillard.

Quant à la « granulie progressive » de M. Manfredi, ainsi que la « syphilis des animaux » décrite par Disse et Tagucchi, elles ressemblent par quelques points à la pseudotuberculose des auteurs; nous en dirons quelques mots plus loin.

*Comparaisons expérimentales.* — Après cette courte esquisse de la bibliographie du sujet, je vais parler des résultats de mes propres recherches, que j'ai faites parallèlement au point de vue bactériologique et anatomique. Malheureusement, je n'ai pu me procurer pour ces recherches les bacilles de toutes les pseudo-

tuberculeuses ci-dessus mentionnées ; je n'ai eu que ceux de MM. Nocard, Pfeiffer, Parietti et Zagari, qui ont été trouvés en quatre endroits divers (Paris, Wiesbaden, Pavie, Naples).

Il est tout naturel que la même espèce bacillaire observée en divers endroits et par divers savants soit décrite différemment ; des changements légers dans la composition chimique des milieux nutritifs suffisent à faire pousser différemment le même bacille. C'est donc d'une façon rigoureusement parallèle que j'ai comparé ensemble le bacille de ces quatre pseudotuberculeuses de diverses provenances, sur les milieux nutritifs, sous le microscope, par inoculation aux animaux et dans les tissus, et je peux avancer que je n'ai pu trouver aucune différence entre elles ; ce que j'ai constaté sur l'une des quatre sortes de pseudotuberculose, je l'ai trouvé également chez les autres ; aussi je me dispense de décrire ces recherches comparatives, et je me restreindrai à énumérer l'ensemble des propriétés communes, pour compléter les descriptions des auteurs sus-nommés et les rectifier lorsque je le croirai nécessaire.

La morphologie du bacille peut être bien étudiée en broyant un pseudotubercule sur le couvre-objet et en colorant avec une solution aqueuse d'une couleur d'aniline quelconque ; de cette manière les bacilles se colorent assez facilement (ce qui est très difficile dans les coupes) et se montrent séparés et distincts ; on voit alors immédiatement qu'il ne s'agit pas d'un coccus, mais d'un bacille, gros, aux bouts arrondis, deux, trois fois plus long que large, quelquefois même plus long, parfois par paires ; les formes sphériques et ovoïdes sont relativement rares.

Si nous ensemençons un peu d'un pseudotubercule frais sur une surface de gélose à 37°5, il se développe, déjà dans les premières vingt-quatre heures, des colonies, qui sont d'abord transparentes, luisantes et lisses ; plus tard elles s'étendent, ne restent transparentes qu'à la périphérie, et finissent par prendre une teinte blanc sale, ou jaunâtre, verdâtre ; à la surface les colonies sont lisses ou en cercles concentriques, et leur étendue atteint au bout de trois, quatre semaines la grosseur d'une lentille ou même plus ; l'eau de condensation de la gélose se trouble, et il se forme un sédiment assez considérable.

Une culture en strie sur gélose s'étend en haut moins largement qu'en bas, où elle peut occuper toute la largeur ; elle est

grasse, luisante, pas granuleuse ou gluante, en général elle n'est pas fort caractéristique. Les cultures un peu vieilles répandent une mauvaise odeur, assez forte, qui est plus caractéristique que la morphologie de la culture. A la surface des cultures sur gélose paraissent des points irisés, qui plus tard recouvrent et dépassent même la colonie.

Outre cela, dans la profondeur et partant de la culture, apparaissent des cristaux assez gros parfois, en nombre considérable; leur longueur peut atteindre un centimètre. Ils sont formés par du phosphate de chaux (d'après M. Liebermann). De grands cristaux et des taches irisées comme celles ci-dessus mentionnées, qui sont également formées par de petits cristaux, peuvent être trouvés aussi chez d'autres bactéries, mais ni en aussi grande quantité, ni avec autant de fréquence. Des cultures sur gélose tout à fait anciennes (d'une année) deviennent foncées, elles prennent une teinte gris-rougeâtre terne, semblable à de la nacre; elles montrent sous le microscope beaucoup de cristaux de cholestérine et de fins petits cristaux en forme d'aiguilles.

Sur la gélatine à 10 0/0, le bacille pousse déjà à la température ordinaire, et forme en dix-huit, vingt heures des colonies bien visibles à l'œil nu; la gélatine ne se liquéfie jamais, mais dans les cultures plus anciennes, la région qui entoure la culture devient opaque, lactiforme. Ensemencé sur la plaque de gélatine à 10 0 0, le bacille forme en vingt-quatre heures des colonies, qui atteignent après trois, quatre jours le maximum de leur étendue; sur ces plaques les colonies profondes sont de la grandeur d'un grain de pavot, rondes; la couleur en est jaunâtre, les bords nets; les colonies superficielles sont beaucoup plus grandes, d'un diamètre de 1,5 à 2 millimètres, avec des bords irréguliers et souvent d'une forme irrégulière, d'une couleur blanc grisâtre, ou blanc sale. Sous le microscope, les superficielles, ainsi que les profondes, sont brun foncé, granuleuses; les dernières laissent souvent apercevoir un anneau concentrique, qui sépare le centre plus brun de la périphérie plus claire de la colonie. Au bout de quelques jours toute la plaque de gélatine se trouble.

Dans du bouillon peptonisé, le bacille pousse très bien, en le troublant considérablement en dix-huit heures; sur les parois et au fond des tubes se forment des flocons; après plusieurs

jours, quand le bouillon est épuisé, ces flocons se déposent et le bouillon s'éclaircit sans former une membrane à la surface.

Sur un sérum de bœuf gélatinisé le bacille pousse assez bien, mais moins que sur gélose ou gélatine; il y forme le long de la ligne d'inoculation une étroite strie, visible surtout par son relief, et dont la largeur ne surpasse pas 4 à 5 millimètres, même en deux, trois semaines.

En ajoutant à la gélose ou à la gélatine de la glycérine, la végétation est beaucoup plus accélérée et plus abondante.

Tous ces caractères ont été trouvés identiques après des recherches réitérées avec les bacilles des quatre sortes de pseudotuberculose; ils se complètent par l'observation de ces bacilles dans la goutte suspendue, qui prouve mieux que toute autre méthode leur identité.

Après l'ensemencement dans une goutte de bouillon peptonisé suspendue, à une température de 37°5, au bout de vingt-quatre heures, au fond de la goutte s'amasse un point blanchâtre; sous le microscope on voit dans la goutte des bacilles isolés, courts, et des chaînettes longues occupant la plus grande partie du champ; ce sont ces dernières qui sont caractéristiques du bacille de cette pseudotuberculose. Les bacilles isolés sont mobiles, ils s'agitent sans direction, tandis que les chaînettes sont presque tout à fait immobiles; seulement, les bacilles isolés qui les entourent semblent leur communiquer quelques oscillations. Les bacilles formant les chaînettes sont ou ovales, ou en courts bâtonnets deux fois plus longs que larges, plus étroits au milieu, ayant la forme d'un cocon. Dans une goutte âgée de trois, quatre jours, les bacilles semblent subir une dégénérescence qui fait gonfler les chaînettes ou quelques-uns de ses individus: en conséquence, le diamètre des derniers peut devenir cinq, six fois plus grand. Au premier coup d'œil la figure ressemble beaucoup à celle du streptococcus, et la dénomination « streptobacille » de M. Dor semble vraiment bien choisie; les bacilles d'une goutte âgée de plusieurs jours offrent des granulations réfringentes dans le plasma, auparavant homogène.

Autant il est facile de montrer les bacilles sur le couvre-objet, autant il est difficile de les faire voir dans des coupes, et j'avoue d'avance que je n'y ai jamais parfaitement réussi; la cause

en est probablement dans la facilité de coloration et de décoloration de ces bacilles.

Avec la méthode de Gram ou de Gram-Weigert, je n'ai jamais réussi à colorer les bacilles, même en opérant avec grand ménagement; j'ai eu le même insuccès avec la méthode de Löffler, quand j'ai décoloré avec de l'acide acétique et de l'alcool. J'obtins une coloration médiocre en colorant avec le bleu de Löffler, et en décolorant avec de l'acide acétique à 1/2 0/0, lavant à l'eau distillée, séchant la coupe selon la méthode d'Unna, et la montant au xylol et au baume; de même en colorant au bleu de méthylène en solution dans le carbonate d'ammonium (1 : 100) et en décolorant avec de l'aniline et du xylol (2 : 1).

Dans des coupes ainsi traitées, les bacilles ont vraiment l'aspect des cocci; quant à leur arrangement dans le pseudotubercule, je n'ai pas pu voir des amas enclos d'une matière hyaline rappelant des zoogléas, bien que parfois on trouve au centre des pseudotubercules des tas de bacilles, qui sont à la périphérie toujours plus rares et forment parfois de courts chapelets.

*Comparaisons anatomiques.* — Quant à l'histologie et l'histogénie de ces pseudotubercules, les quatre pseudotuberculoses diffèrent aussi peu entre elles que leurs bacilles; mes recherches sur ce point ont été faites avec des coupes de foie du cobaye.

Le pseudotubercule est engendré principalement par des cellules migratrices, mais il semble que les cellules propres des organes participent aussi à sa formation.

Le pseudotubercule dans le foie se fait reconnaître au premier abord par la dégénérescence granuleuse des cellules du foie, par la faible coloration de leurs noyaux et par l'apparition de petites cellules sphériques. Avec l'agrandissement du pseudotubercule, les vaisseaux capillaires des îlots hépatiques se dilatent, se remplissent de cellules à un ou à plusieurs noyaux, du caractère des petites cellules épithélioïdes; par conséquent les colonnes des cellules hépatiques s'amincissent, leurs cellules se détachent en subissant diverses altérations; le plus souvent elles deviennent des grumeaux réfringents, qui prennent aisément les couleurs d'aniline, surtout la safranine et l'éosine; quelquefois au contraire les cellules hépatiques du pseudotubercule restent incolores, hyalines, leur noyau se ratatine et

brunit. Une semblable altération se voit d'ailleurs aussi dans les véritables tubercules et dans leur voisinage. Encore plus tard, ces cellules hépatiques disparaissent sans doute. Au centre du pseudotubercule on remarque parfois plusieurs taches incolores, lesquelles, vues avec l'objectif à immersion, sont composées de petites granulations brillantes, qui sont des bacilles se colorant très difficilement.

D'ailleurs la plus grande partie du pseudotubercule est formée de petites cellules en telle quantité, que leur examen présente d'assez grandes difficultés, même dans des coupes très minces ; ces cellules sont de deux sortes, les unes petites, pourvues d'un noyau unique ou de ses débris toujours bien colorés, cellules semblables à celles du pus ; les autres, plus grandes, renferment deux, trois, ou plusieurs noyaux ovales, vésiculeux. Une partie de ces dernières semble être des cellules migratrices, car on en voit dans l'intérieur des capillaires et des gros vaisseaux ; l'autre partie semble au contraire dériver des cellules endothéliales.

Ce centre du tubercule si riche en cellules est souvent entouré d'une zone à peine colorée, formée par des cellules hépatiques dégénérées. Je n'ai jamais vu des cellules géantes de Langhans, avec centre granuleux.

Le pseudotubercule et le tubercule véritable diffèrent donc surtout au début de leur développement. Tandis que le tubercule s'édifie par multiplication des cellules propres des tissus, à laquelle ne se joignent que plus tard des cellules migratrices, le pseudotubercule est déjà composé immédiatement par des cellules migratrices, bien que les cellules endothéliales des petits vaisseaux participent aussi à sa formation. Le tubercule véritable est donc un produit hyperplastique, tandis que le pseudotubercule est surtout exsudatif, sans toutefois l'être exclusivement.

*Différences entre les résultats de divers auteurs.* — Après avoir démontré par mes recherches histologiques et bactériologiques l'identité des pseudotuberculoses décrites par MM. Nocard, Parietti, Pfeiffer et Zagari, je dois essayer d'expliquer les différences parfois assez considérables des travaux de ces auteurs.

Ainsi M. Parietti décrit son bacille comme plus court et

« peut-être » plus mince que celui de Koch ; j'avoue que je n'ai pu constater cela sur la culture que m'a envoyée M. Parietti ; il est vrai que son bacille est plus court que celui de Koch, mais il est plus gros, comme les trois autres bacilles.

M. Nocard attribue à son bacille un mouvement rapide, et M. Parietti estime que le sien est également mobile, quoique beaucoup moins, tandis que les bacilles de Zagari et Pfeiffer sont immobiles. M. Pfeiffer a observé que les chaînettes sont immobiles, tandis que les bacilles isolés exécutent un mouvement moléculaire sans locomotion notable. Pour moi, je suis d'accord avec M. Pfeiffer sur les mouvements des quatre sortes de bacilles ; je m'explique l'avis contraire de M. Nocard par ce fait, qu'il n'a observé que des bacilles isolés, lesquels ont réellement quelques mouvements.

M. Pfeiffer a trouvé qu'il se forme autour des colonies de son bacille sur gélatine des petits cristaux en aiguilles ; il a aussi remarqué des cristaux semblables dans les cultures en bouillon ; il les considère comme caractéristiques et y attache une grande importance au point de vue diagnostique. M. Parietti mentionne la formation de semblables cristaux dans les cultures en piqure sur gélatine, tandis que M. Pfeiffer n'en a jamais remarqué dans de pareilles cultures, et que MM. Nocard et Parietti n'en font aucune mention.

Pour moi, je n'ai vu ni chez le bacille de M. Pfeiffer, ni chez celui de M. Parietti, la formation de semblables cristaux autour des colonies. D'ailleurs, l'apparition d'une couronne semblable de cristaux peut être observée chez d'autres bacilles non pathogènes.

Quant à l'odeur des cultures de ce bacille, MM. Nocard, Pfeiffer et Zagari n'en parlent pas, tandis que, selon M. Parietti, les cultures en gélatine répandent une odeur dégoûtante, contrairement aux cultures en bouillon et sur gélose. Sur ce point, je peux affirmer que les quatre sortes de bacilles développent une odeur semblable, surtout sur gélose, tandis que les cultures sur gélatine sont à peine odorantes. J'arrive à la végétation de ce bacille sur pomme de terre, car elle est assez caractéristique.

D'après MM. Nocard, Pfeiffer et Zagari, le bacille ne pousse sur la pomme que très chétivement et lentement, formant des colonies blanc jaunâtre ; selon M. Parietti, il pousse avec une

couleur pâle jaunâtre, et la partie inoccupée de la pomme brunit.

D'après mes observations, des cultures anciennes transportées sur pomme de terre ne poussent pas en général, mais, emprunté à une culture récente, le bacille forme des colonies, qui sont déjà visibles au bout de vingt-quatre heures à 37°,5; elles sont d'abord jaune pâle, puis elles deviennent saillantes, abondantes et rouge brunâtre; la pomme de terre tout entière se colore en noir verdâtre. Ces cultures ressemblent donc à celles du bacille de la morve. Ajoutons que le bacille pousse de même sur des pommes de terre franchement acides.

Une propriété des cultures sur gélatine, qui n'a été signalée que par M. Parietti, mérite d'être mentionnée, bien qu'elle puisse être observée également chez d'autres bactéries; la gélatine se trouble autour des colonies en piqûres, en stries ou sur plaque.

M. Nocard a dit que son bacille est en même temps aérobie et anaérobie; il a probablement voulu dire simplement que son bacille peut végéter avec peu d'oxygène, car nous avons remarqué que ce bacille pousse dans la profondeur de la piqûre et de la plaque de gélatine, même très mince, beaucoup plus chétivement qu'à la surface.

Voilà pour le bacille lui-même; passons maintenant aux observations anatomiques et histologiques comparatives.

Les détails histologiques sont d'accord quant aux cellules rondes, lymphoïdes et aux cellules épithélioïdes; les cellules géantes observées par MM. Nocard et Zagari pouvaient être des éléments divers; d'abord elles pouvaient avoir été des cellules endothéliales ou migratrices à plusieurs noyaux, comme nous l'avons mentionné plus haut; elles pouvaient encore avoir été simulées par des coupes transversales de capillaires remplis de cellules endothéliales agrandies et à noyaux multiples. Dans le foie ce sont les petits vaisseaux biliaires, dont la coupe transversale peut être prise facilement pour une cellule géante, surtout si leur vide s'annule par la pression des cellules voisines. Ni M. Nocard ni M. Zagari n'ont probablement rencontré des cellules géantes semblables à celles qu'on voit dans les vrais tubercules; quant à moi je n'en ai pas aperçu, bien qu'ayant observé une multitude de coupes.

Au sujet de la coloration des bacilles dans des coupes, les auteurs sont tous d'accord pour dire qu'ils se colorent très diffi-

cilement. La démonstration des bacilles dans les coupes est d'autant plus difficile, que les pseudotubercules sont plus anciens, ainsi que l'a remarqué M. Pfeiffer.

Des zooglées, c'est-à-dire des amas bacillaires renfermés dans une substance homogène, ne sont décrites que par MM. Nocard et Zagari; M. Nocard, en parlant des coupes, fait remarquer que la substance homogène, qui réunit les cocci, reste incolore, et, de plus, que ces zooglées ne se colorent qu'à leur périphérie.

J'ai observé que les bacilles sont renfermés en général dans les cellules mêmes, qu'ils remplissent parfois complètement; les amas bacillaires peuvent être limités nettement par les contours des cellules, mais parfois on en trouve aussi entre les cellules, ne formant pas d'amas trop épais; on peut facilement y distinguer des formes oblongues ou des formes rondes et de courtes chaînettes. Je n'ai jamais vu de groupes bacillaires épais enlisés dans une substance homogène; il n'est pas impossible que la propriété de former des zooglées soit facultative et puisse disparaître dans certaines circonstances.

D'accord avec les auteurs, je peux aussi affirmer que le bacille de la pseudotuberculose se trouve tantôt dans le sang et tantôt en est absent; on n'a jamais réussi à le déceler avec le microscope, mais seulement par les cultures.

Nous venons de prouver que la pseudotuberculose observée en divers lieux et en divers temps par MM. Nocard, Parietti, Pfeiffer et Zagari, est causée par le même bacille, et qu'elle est caractérisée par des altérations anatomiques semblables; en outre, dans l'introduction de cette note, nous avons rappelé que M. Nocard a comparé la pseudotuberculose de MM. Charrin-Roger et de M. Dor avec les deux sortes qu'il eut occasion d'observer, et que, pour lui, ces maladies, de quatre origines distinctes, sont dues à des bacilles semblables. Nous n'hésitons pas à nous appuyer sur les observations d'un spécialiste si autorisé, pour dire que la pseudotuberculose décrite par MM. Charrin-Roger et Dor est identique aux quatre autres étudiées comparativement par nous.

Reste à se demander qui a le mérite d'avoir découvert cette pseudotuberculose et notamment son bacille? Nous ne voulons pas éluder cette question, et cela d'autant moins que certains auteurs n'ont pas prêté assez d'attention aux travaux de leurs

prédécesseurs sur ce sujet. La publication de M. Pfeiffer sur la pseudotuberculose des rongeurs, publiée en août 1889, est passible de ce reproche. Non seulement ce savant donne les travaux de MM. Charrin-Roger et Dor parus en 1888 comme « très superficiels » et comme tels, « qu'il est impossible de dire si les auteurs ont observé son bacille ou tout autre », mais il a omis de citer les recherches de M. Nocard datant déjà de 1885 et du mois de mars 1889 ; M. Pfeiffer ne fait pas mention non plus des travaux de MM. Malassez-Vignal et d'Eberth, qui, s'ils n'ont pas cultivé le bacille, l'ont en tous cas observé dans les tissus ; MM. Charrin-Roger, Dor, Nocard, ont cependant cultivé le bacille trouvé par eux avant l'apparition de la monographie de M. Pfeiffer ; ils ont, en plus, engendré la maladie en inoculant des cultures pures, et ils nous ont fait connaître plusieurs caractères de ce bacille, qui est celui de M. Pfeiffer. Il faut rendre la priorité aux auteurs auxquels elle est due.

*Autres pseudotubercules.* — Parmi les autres pseudotubercules, seule, celle de MM. Grancher et Ledoux-Lebard peut être rapprochée presque avec certitude de la précédente, non seulement en raison des descriptions et des dessins de ces auteurs, qui correspondent tout à fait à ceux de M. Nocard, mais aussi parce qu'eux-mêmes, comparant leur bacille avec celui de MM. Charrin-Roger, les ont trouvés identiques.

Le bacille trouvé par MM. du Cazal et Vaillard, dans les lésions tuberculiformes de l'homme, ne peut être regardé comme identique à celui que nous venons de décrire, puisqu'il en diffère par deux caractères essentiels : il liquéfie la gélatine et n'est pas pathogène pour le cobaye.

Le cas de M. Hayem, observé aussi chez l'homme, peut-il être mis sur le même tableau ? Sur ce point les descriptions bactériologiques sont insuffisantes et ne nous donnent aucun appui. Aussi, nous ne croyons pas fondée l'opinion de l'auteur, qui identifie son cas avec l'infection coccienne de Manfredi, et avec la pseudotuberculose de MM. Nocard et Charrin-Roger.

Il faut maintenant dire quelques mots des bacilles de la syphilis de Disse-Tagucchi, et de la « granulie progressive » de Manfredi, d'autant plus que M. Baumgarten, dans son *Manuel bactériologique*, penche à les identifier avec ceux de la pseudotuberculose de MM. Eberth, Malassez-Vignal et Chantemesse.

Disse et Tagucchi ont trouvé dans le sang des individus syphilitiques des bacilles, dont l'inoculation a provoqué chez les animaux « des lésions syphilitiques caractéristiques ». Abstraction faite de la valeur des observations de ces auteurs, nous pouvons prétendre que leur bacille est différent de celui de la pseudotuberculose, parce que le premier est bien colorable avec le Gram, méthode qui ne réussit jamais avec le bacille de Charin-Roger, Dor et Nocard.

Le bacille trouvé par Manfredi chez deux enfants pneumoniques, à ce qu'on peut juger par les descriptions, pourrait être assimilé au bacille en question quant à sa morphologie et ses cultures; seule, sa facile coloration n'est pas compatible avec cette identité. Manfredi a réussi à colorer son bacille (qu'il nomme coccus) dans les coupes avec du bleu de méthylène en solution aqueuse, ou avec la méthode de Gram faite avec précaution, chose qui n'a réussi à personne avec le bacille de la pseudotuberculose. Manfredi remarque, d'ailleurs, qu'après un certain temps les bacilles ne se colorent que difficilement, qu'ils forment parfois des zooglées, et qu'ils sont renfermés le plus souvent dans le plasma, tous caractères qui sont propres au bacille de la pseudotuberculose étudiée ci-dessus. Pour ma part, je ne doute pas que le « coccus » de Manfredi soit identique avec le bacille de la pseudotuberculose: du moins les altérations anatomiques qu'il provoque sont les mêmes.

Quant aux cas dans lesquels les bacilles n'ont pas été examinés en cultures, mais seulement au microscope, on n'en peut naturellement juger qu'avec plus ou moins de vraisemblance: tels sont le cas bien connu de MM. Malassez et Vignal et celui de M. Eberth, « du bacille de la pseudotuberculose du lapin ».

D'après MM. Malassez et Vignal, les tubercules zoogléiques sont d'abord composés par des cellules lymphoïdes, plus tard par des cellules épithélioïdes, entre celles-ci par quelques cellules géantes; au centre des tubercules, les bacilles forment parfois des zooglées; parfois ils forment des amas moins épais ou des chaînettes; quelquefois ils sont renfermés dans des cellules géantes, ce qui, d'après MM. Malassez et Vignal, n'est qu'une apparence. Leurs bacilles ne se coloraient qu'avec du bleu de méthylène de Berlin, et avec difficulté. On voit donc que la maladie et ses bacilles répondent à la pseudotuberculose de

MM. Charrin-Roger; leurs dessins nous présentent des bactéries sphériques et oblongues ou en cocon, parfois en chaînettes; les cellules géantes de ces auteurs n'étaient pas selon toute vraisemblance des cellules géantes de Langhans, mais des cellules à plusieurs noyaux dérivées de l'endothélium ou des cellules migratrices; la formation des zooglées n'a pas été non plus toujours observée par eux. Mais il est très surprenant que, sur vingt essais de culture sur le sérum, MM. Malassez et Vignal n'en aient réuni qu'un, qui a donné au bout de plusieurs jours une culture ayant la forme d'une petite écaille blanche sèche, tandis que nous savons, par ce qui précède, que le bacille de la pseudotuberculose étudié par nous pousse dans tous les milieux vite et abondamment; à part cela, il est très vraisemblable que MM. Malassez et Vignal ont expérimenté avec la même maladie, qu'ont observée plus tard MM. Charrin-Roger, Nocard, Dor et d'autres. Nous sommes du même avis sur la pseudotuberculose de M. Eberth; il n'a observé ni zooglées, ni cellules géantes, mais un bacille en tout semblable à celui de MM. Malassez et Vignal, qu'il n'a pas essayé de cultiver.

Pour être complet, nous ajouterons que M. Toussaint a déjà trouvé, avant la découverte du bacille de Koch, dans le sang d'une vache tuberculeuse, un micrococcus, qui pouvait former des lésions tuberculiformes. M. Toussaint a cultivé ce coccus et a réussi parfois à provoquer des lésions tuberculiformes; mais, comme il ne l'a cultivé que dans du bouillon, il n'opérait sans doute pas avec des cultures pures, et cette tuberculose était vraisemblablement causée par le bacille de Koch contenu dans le bouillon en même temps que le coccus; par conséquent, le cas de M. Toussaint n'est pas du tout apte à la comparaison avec la pseudotuberculose de Charrin-Roger etc.; la pseudotuberculose décrite par M. Legrain n'est pas non plus identique à la dernière, puisque son bacille liquéfie la gélatine.

Après avoir parcouru, croyons-nous, toute la bibliographie se rapportant à la pseudotuberculose, nous pouvons résumer ainsi les résultats de nos recherches comparatives.

Les maladies infectieuses, qui ont été découvertes en divers endroits et décrites dans l'espace de trois années à peine, chronologiquement par MM. Charrin et Roger, Dor, Nocard, Pfeiffer, Zagari, Parietti, et qu'ils ont dénommées différemment (tuber-

culose zoogléique, tuberculose streptobacillaire, pseudotuberculose bacillaire), sont toutes la même maladie, parce qu'elles sont toutes provoquées par le même bacille. A cause de la ressemblance anatomique de cette maladie avec la tuberculose véritable, nous avons accepté la dénomination de « pseudotuberculose » qui exprime, mieux que toute autre, que cette maladie ressemble à la tuberculose, mais qu'elle ne l'est pas.

Le nom de « tuberculose zoogléique » ne semble pas être des mieux choisis, car la formation de zooglées, si c'est en général une propriété de notre bacille, n'est pas constante, comme l'ont remarqué déjà MM. Malassez et Vignal, à qui l'on doit cette dénomination.

Puisque cette pseudotuberculose se trouve surtout chez le lapin et le cobaye, et puisque nous connaissons déjà, jusqu'à présent, plusieurs maladies semblables à la première au point de vue anatomique, mais différentes au point de vue étiologique, nous proposons de dénommer cette maladie « la pseudotuberculose des rongeurs (*pseudotuberculosis rodentium*), et d'appeler avec M. Dor *strepto-bacille* son agent producteur, car ce terme rappelle un des caractères importants de ce bacille, celui de se présenter dans les cultures en bouillon sous l'aspect de chaînettes.

Ce streptobacille ne se trouve pas seulement chez les rongeurs, mais, comme le prouve l'introduction de cette note, également dans des organes malades d'autres animaux ou dans d'autres substances encore, et il semble, en somme, assez répandu dans la nature.

Outre les pseudotuberculosés signalées jusqu'ici, nous ne manquerons pas de mentionner la pseudotuberculose bien étudiée par M. Courmont, différente certainement de la pseudotuberculose des rongeurs, car son agent producteur n'est pas le streptobacille. D'ailleurs, nous savons que M. Courmont a observé le streptobacille de M. Dor, et réciproquement; or, ces deux auteurs sont loin d'identifier les deux bacilles.

#### PSEUDOTUBERCULOSE DU MOUTON

Cela dit, nous passons à la description du bacille de notre pseudotuberculose, que nous n'avons faite dans notre première note que très superficiellement; je remarquais déjà alors, inci-

demment, que ce bacille trouvé par moi est différent des bacilles de la pseudotuberculose connus jusqu'à présent, ce qui sera prouvé dans la suite.

*Isolement du bacille.* — Les reins de mouton, qui ont servi de point de départ à nos recherches, servaient en même temps à des inoculations et à desensemencements sur divers milieux. Ces derniers ne nous ont jamais donné qu'un bacille poussant très vite et abondamment, différent de celui qui existait dans les reins ; fait remarquable, ce bacille se retrouvait dans les lésions d'un cobaye inoculé dans la veine avec la matière originelle, et aussi dans les lésions d'un second cobaye inoculé avec les lésions du premier ; mais les nodules jeunes des animaux inoculés contenaient en grand nombre le petit bacille, trouvé originairement dans les reins de mouton ; si ce dernier bacille n'a pas apparu dans les cultures, c'est qu'il pousse ou très lentement, ou seulement dans une atmosphère privée d'oxygène ; l'expérience a vérifié la première supposition.

La rate remplie de pseudotubercules du deuxième cobaye fut écrasée, un demi-gramme de ce suc fut inoculé dans le péritoine d'un troisième cobaye, qui succomba le cinquième jour après. Avec les lésions du point d'inoculation, de l'épiploon, du ligament hépato-duodéal, j'ensemenciai avec une aiguille de platine plusieurs tubes de gélose ; à 37° les tubes ensemencés avec les lésions de la paroi abdominale et de l'épiploon montraient toujours le grand bacille, poussant très vite, tandis que les tubes ensemencés avec les nodules du ligament hépato-duodéal ont donné un bacille tout différent, se développant très lentement.

Des lésions du troisième cobaye broyées avec de l'eau stérilisée, un gramme fut inoculé à un quatrième cobaye, et dix gouttes à un cinquième dans le péritoine. Dans le quatrième cobaye, on pouvait encore trouver le grand bacille, tandis que les lésions du cinquième ne contenaient plus que le petit, poussant beaucoup plus lentement. Il n'était donc plus douteux que c'était ce dernier bacille qui avait tué les animaux, parce qu'il était en tout conforme au bacille trouvé dans les reins du mouton, aussi bien que dans les lésions des animaux inoculés.

*Inoculations.* — Avec les cultures de ce bacille, on inocula

des lapins et des cobayes soit sous la peau, soit dans le péritoine; ces animaux devinrent malades et succombèrent tout comme les animaux inoculés avec les lésions originales.

Les animaux inoculés succombèrent 2-10-35 jours après l'inoculation. Dans les inoculations sous-cutanées il se formait un foyer nécrotique plus ou moins grand, qui fut parfois éliminé. Les résultats de l'inoculation sous-cutanée dans la cuisse et dans le péritoine étaient en général semblables, car dans l'un et dans l'autre cas il se formait des nodules purulents-caséeux, variant de la grosseur d'un grain de mil à celle d'un pois et davantage, dans les glandes lymphatiques, dans la rate, le foie et l'épiploon; il y avait pourtant une petite différence, car, dans l'inoculation sous-cutanée, c'étaient les glandes lymphatiques inguinales, et plus tard celles du bassin et du rétro-péritoine, qui étaient altérées en premier lieu, tandis que l'inoculation abdominale a provoqué ordinairement une péritonite générale avec des nodules surtout sur le feuillet pariétal du péritoine, et des foyers purulents-caséeux de l'épiploon toujours ratatiné, des ligaments hépatiques et gastriques, et des ganglions lymphatiques péri-portaux.

Un des cobayes inoculé sous la peau, et mort trente-cinq jours après, montra une rate très agrandie par des tumeurs confluentes de la grosseur d'un pois; les ganglions inguinaux étaient de la grosseur d'un haricot, et un ganglion du médiastin atteignait celle d'une noix.

Une souris blanche, inoculée dans le péritoine avec 1-2 gouttes de l'eau de condensation d'une culture sur gélose, est morte au bout de dix jours, et montra à l'autopsie des nodules tuberculiformes de la grosseur d'un grain de pavot jusqu'à celle d'un grain de mil sur le péritoine, dans la rate, le foie et les reins.

Pour le pigeon, les cultures n'étaient pas pathogènes, pas plus que la substance prise dans les lésions pathologiques.

A une brebis j'inoculai dans la cuisse quelques grammes d'une culture en bouillon; au bout de quelques jours il se développait *in loco* une tumeur de la grosseur d'un œuf d'oie, qui éclata et qui élimina des lambeaux jaunâtres de tissu nécrosé; l'ulcération finissait par se cicatriser, tandis que les ganglions inguinaux s'accroissaient; mais l'animal vit encore et semble être sain une année après l'inoculation.

On réussit ordinairement, sans beaucoup de difficultés, à trouver notre bacille dans les lésions pathologiques, soit en écrasant un nodule sur la lamelle et en le colorant, soit en le colorant dans des coupes d'après Gram, soit par la culture sur les milieux nutritifs.

*Cultures.* — Si l'on prend un peu d'un nodule avec une aiguille de platine et qu'on l'étende bien à la surface de la gélose inclinée, on ne voit presque rien dans les tubes tenus à 37° 5 pendant 24 heures ; ce n'est que le lendemain qu'apparaissent de petites colonies, qui poussent très lentement et atteignent leur maximum six, huit jours après l'ensemencement ; alors leur diamètre est de 2 à 3 millimètres, au plus celui d'une lentille. Ces colonies ne sont pas d'un blanc pur, mais blanc-grisâtre, mates, minces, sous forme d'écaille ; leur forme est plus ou moins arrondie, à bords irréguliers, dentelés à la manière des lichens ; les colonies sont ou également minces, ou elles sont mamelonnées ; leur surface n'est pas lisse, mais chagrinée, sillonnée ou granuleuse. Un caractère notable de ces cultures est leur siccité, grâce à laquelle les colonies touchées avec l'aiguille se déplacent ou se brisent. Sur de la gélose glycinée le bacille pousse moins vite.

La culture en piqûre dans la gélose montre à la surface une colonie semblable à celles qui se forment sur une surface inclinée ; la piqûre même est composée en haut par une strie assez épaisse, en bas par des points blancs isolés.

Dans la culture en bouillon, le bacille forme au fond de petites granulations, à la surface une croûte s'émiettant par l'agitation ; cette croûte est parfois assez épaisse, et elle ressemble aux écailles qu'on peut faire en laissant tomber de la stéarine fondue sur de l'eau fraîche ; le bouillon se trouble à peine.

Dans des cultures plus anciennes il est au contraire totalement clair, à sa surface la formation de la croûte a cessé, les débris de cette dernière et des granulations en occupent le fond. L'alcalinité du bouillon ne change pas dans les vieilles cultures.

Sur la gélatine à la température ordinaire, le bacille ne pousse pas en général ; dans l'étuve à 37° il pousse tout comme dans du bouillon.

Le milieu le plus favorable est le sérum du bœuf, sur lequel les colonies poussent plus vite et sont encore plus caractéristiques que sur gélose, quoiqu'elles n'y deviennent jamais si étendues.

Sur du sérum faiblement coagulé (gélatinisé), la matière purulente caséuse, ensemencée à 37°, donne déjà, au bout de vingt-quatre heures, naissance à des colonies petites, de la grosseur d'un point ou d'une graine de pavot; ces colonies s'agrandissent à peine, si bien que leur diamètre ordinairement ne surpasse pas 1,5 millimètre; elles ont aussi des bords irréguliers, mais une surface lisse et luisante, et, ce qui est le plus caractéristique, elles présentent une couleur jaune doré ou orangé; cette couleur se montre bien au fond de l'eau de condensation, où se forme un sédiment jaune assez copieux. Chose curieuse, la couleur jaune des colonies n'est pas toujours la même: tantôt elle est très foncée, tantôt elle est claire, malgré les conditions uniformes dans lesquelles ont végété les cultures; parfois même, les diverses colonies d'un seul tube présentent des nuances assez variées.

Outre la coloration jaune, les cultures sur le sérum sont encore caractérisées par une zone trouble assez large autour d'elles; cette zone est moins foncée au voisinage immédiat, elle est plus ou moins jaune, parfois plus jaune que la colonie même; ses contours sont effacés.

Sur du blanc d'œuf coagulé le bacille pousse incolore; sur la pomme de terre il ne végète pas en général.

Dans la goutte de bouillon suspendue, les bacilles forment des petits amas toujours sans mouvement et sans disposition à former des chaînettes.

En faisant avec une culture quelconque une préparation sèche, et en colorant avec une solution aqueuse de violet de gentiane ou de fuchsine, on peut bien étudier la morphologie de ce bacille, mais pas sans de très forts grossissements, puisque ce bacille est un des plus petits. Dans une telle préparation on aperçoit des formes presque entièrement sphériques à côté des bacilles plus ou moins longs aux bouts arrondis; les formes les plus caractéristiques sont les bacilles renflés. Le renflement peut être, total ou partiel, c'est-à-dire à un bout, ou aux deux bouts du bacille, il en résulte des formes grosses ovoïdes et des formes en massues et en haltères. Par ce renflement les

bacilles peuvent atteindre une grosseur plusieurs fois plus grande que la normale. Dans un certain nombre des bacilles, surtout dans la partie moyenne des renflés, se font remarquer des stries transversales moins colorées, ce qui s'explique vraisemblablement par l'hétérogénéité et en conséquence par une coloration inégale du plasma.

Le bacille aime à former des amas épais.

Les formes sus-mentionnées se montrent dans les cultures sur gélose ainsi que sur sérum ou dans le bouillon ; seulement parfois les bacilles courts et minces sont les plus nombreux, l'autre fois au contraire ce sont les bacilles renflés ; ceux-ci sont les plus nombreux dans des cultures jeunes sur gélose, tandis que dans les cultures plus anciennes ils se colorent très difficilement et dépérissent en partie.

Dans des coupes, ce sont surtout les bacilles plus ou moins longs et les formes aux stries incolores qu'on voit, mais ils sont un peu plus minces que ceux des cultures, à peine plus épais que le bacille du rouget dans les tissus : des bacilles renflés n'y manquent pas non plus, mais le renflement n'est pas si considérable.

Au point de vue morphologique, ce bacille ressemble donc à celui de la diphthérie de l'homme (Löffler) : seulement le dernier est plus gros dans tous ses diamètres.

*Anatomie des lésions.* — En ce qui concerne l'anatomie des altérations provoquées par notre bacille, je vais compléter ce qui était énuméré dans la première note, en remarquant que, pour l'uniformité, nous avons encore choisi pour nos recherches le foie du cobaye.

Le début de la formation du pseudotubercule est aussi une multiplication des cellules endothéliales qui, mélangées encore de globules blancs, obstruent la lumière des capillaires. Les cellules hépatiques subissent dès le début une dégénérescence, elles se gonflent, deviennent granuleuses, parfois elles renferment des vacuoles ; plus tard, quand les capillaires sont déjà obstrués, elles se séparent, s'atrophient, et enfin périssent sans doute, car dans des pseudotubercules plus âgés on n'en trouve que rarement ou pas du tout. A la périphérie du pseudotubercule, les cellules hépatiques sont souvent allongées dans une orientation concentrique. La plupart des nodules plus anciens

sont formés par des cellules irrégulières, à noyau bien colorable et à bordure étroite de plasma, qui peuvent être prises plutôt pour des cellules de granulation que pour des cellules épithélioïdes; parmi celles-ci, on ne trouve que peu de cellules de pus à noyau fragmenté. Des cellules à plusieurs noyaux n'ont pas pu être observées, ce qui n'a pas d'ailleurs d'importance.

L'arrangement des bacilles dans le tissu se présente très bien dans des coupes colorées avec la méthode de Gram, préalablement traitées avec du carmin. En général les bacilles sont rangés dans des masses épaisses de diverses grandeurs, entre lesquelles se trouvent à peine quelques individus isolés; mais parfois le tissu est totalement infiltré de bacilles. Les groupes de bacilles occupent ordinairement l'intérieur des cellules, dont ils ne dépassent pas les limites dans les nodules jeunes; mais dans les pseudotubercules plus anciens, leur étendue peut bien surpasser celle des cellules. Quelque grands que soient les amas bacillaires, toujours ils se colorent bien et uniformément.

Ce bacille, tout différent de tous les bacilles pathogènes connus jusqu'ici, engendre donc les mêmes altérations anatomiques que le streptobacille; inoculés aux animaux, tous deux provoquent une tumeur au point d'inoculation, dans les ganglions, et des nodules dans les organes divers; tous deux s'étendent avec prédilection dans les voies des vaisseaux lymphatiques, d'où ils peuvent arriver dans la circulation pour se localiser dans des organes éloignés, et pour y former des pseudotubercules; tous deux sont donc des parasites des tissus; l'un et l'autre ne se trouvent dans le sang qu'en petit nombre et pas dans tous les cas.

Il faut que je fasse remarquer une propriété de cette pseudotuberculose du mouton, qui est regardée par certains auteurs comme une caractéristique exclusive de la tuberculose, c'est la calcification. Chez les animaux d'expérience, je n'en ai jamais observé, sans doute à cause de la trop courte durée de la maladie, et il me faut aussi remarquer, que les foyers provoqués par l'inoculation étaient ordinairement tendres et renfermaient une substance caséuse purulente.

Notre pseudotuberculose a provisoirement peu d'importance au point de vue de la pratique, et, pour la distinguer d'autres maladies semblables au point de vue anatomique, nous l'appelons

« pseudotuberculose du mouton » (*pseudotuberculosis ovis* de St. Etienne).

Il n'est pas impossible que la maladie tuberculiforme observée chez le bœuf dans plusieurs cas par le vétérinaire allemand, M. Walsthöni, dont un cas fut examiné et décrit par M. Kitt, soit causée par notre bacille. J'eus l'occasion d'examiner moi-même ces bacilles dans des coupes de poumons, et j'avoue que je les ai trouvés très semblables aux miens. Malheureusement M. Kitt n'a pas réussi à cultiver ces bacilles, et il est remarquable que les inoculations n'aient donné que des résultats négatifs.

Avant de terminer, nous ne pouvons pas manquer de remarquer que tous les cas de tuberculose, dans lesquels on n'a pas réussi à constater le bacille de Koch, doivent être regardés comme suspects de pseudotuberculose.

J'exprime ici ma reconnaissance à MM. Nocard, Pfeiffer, Parietti et Zagari pour m'avoir envoyé des cultures de leur bacille, et à M. Kitt pour m'avoir cédé du poumon ci-dessus mentionné.

Budapest, août 1893.

#### EXPLICATION DES FIGURES DE LA PLANCHE

*Fig. I.* — Streptobacille de la pseudotuberculose des rougeurs (provenant de M. Pfeiffer) culture sur la plaque de gélatine âgée de 3 jours; 1:1000

*Fig. II.* — Streptobacille de la pseudotuberculose dans une cellule de rate d'un cobaye inoculé avec une culture de M. Zagari; 1:1000.

*Fig. III.* — Bacille de la pseudotuberculose du mouton (de Saint-Etienne), culture sur gélose âgée de quelques jours; 1:1000.

*Fig. IV.* — Bacille de la pseudotuberculose du mouton dans des cellules endothéliales du péritoine d'une souris inoculée dans l'abdomen; 1:1000.

*Fig. V.* — Streptobacille de la pseudotuberculose en goutte suspendue; chaînettes et bacilles renflés; 1:1000.

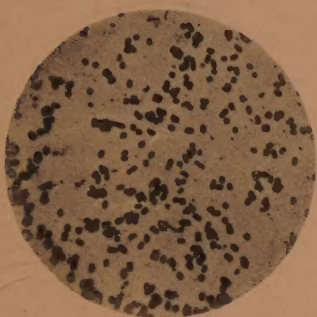
*Fig. VI.* — Bacille de la pseudotuberculose du mouton; culture sur gélose âgée de trois mois; 1:3.

*Fig. VII.* — Cellules à plusieurs noyaux d'un pseudotubercule jeune provoqué par le bacille de M. Parietti.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. L. MALASSEZ et W. VIGNAL, Tuberculose zoogléique. (*Arch. de phys. norm. et path.*, 1883, II.)

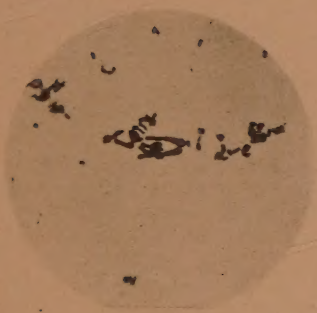
2. L. MALASSEZ et W. VIGNAL, Sur le microorganisme de la tuberculose oogléique. (*Ibidem*, 1884.)



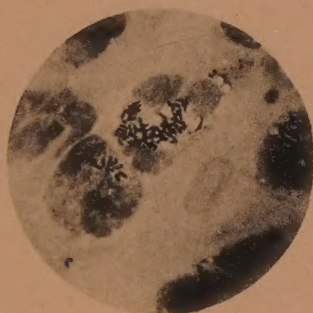
I



II



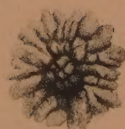
III



IV



V



VI



VII



3. G. J. EBERTH, Zwei Mykosen des Meerschweinchens. (*Virchow's Arch. T. C.*)
4. G. J. EBERTH, Der Bacillus der Pseudotuberculose d. Kaninchens (*Virchow's Arch. T. CIII.*)
5. A. CHANTEMESSE, La tuberculose zoogléique. (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1887.)
6. E. NOCARD, Sur une tuberculose zoogléique des oiseaux de basse-cour. (*Recueil de médecine vétérinaire*. 1885, mai.)
7. NOCARD et MASSELIN, Sur un cas de tuberculose zoogléique d'origine bovine. (*Société biologique*. 1889, mars.)
8. NOCARD, sur la tuberculose zoogléique. (*Ibidem* : octobre.)
9. CHARRIN et ROGER, Première note sur une pseudotubercul. bacillaire. (*Mémoires de la Société de biol.* 1888.)
10. CHARRIN et ROGER, Sur une pseudotub. bacillaire (*C. R. de l'Acad. des sciences*, 1888.)
11. DOR, De la tuberculose streptobacillaire du lapin et du cobaye. (*Mém. de la Soc. de biologie*. 1888.)
12. GRANCHER et LEDOUX-LEBARD, Recherches sur la tubercul. zoogléique. (*Arch. de méd. expér.* 1889, 1890.)
13. COURMONT, Sur une nouvelle tuberculose bacillaire. (*Société de biologie*, 1889.)
14. A. PFEIFFER, Ueber die bacillare Pseudotuberculose bei Nagethieren. Leipzig, 1889.)
15. ZAGARI, Sulla così detta tuberculosa zooglica. (*Centralblatt f. Bakteriologie*. 1890.)
16. PARIETTI, Eine form von Pseudotuberculose. (*Ib.* 1890.)
17. BAUMGARTEN. (*Lehrbuch d. pathol. Mykologie*. 1890.)
18. DU CAZAL et VAILLARD, Sur une maladie parasitaire de l'homme. (*Annales de l'Institut Pasteur*. 1893.)
19. HAYEM, Pseudotuberculose bacillaire chez l'homme. (*La semaine méd.* 1891 jul.)
20. MANFREDI, Ueber einen neuen Mikrokokken als pathog. Agens bei infect. Tumoren. (*Fortschritte der Medicin*. 1886.)
21. DISSE et TAGUCCI. (*Baumgartens Jahresbericht*, 1885-86.)
22. TOUSSAINT. (*Comptes rendus et Revue vétérinaire* 1880-81.)
23. KITT, Zur Kenntniss tuberculoseähnlicher Zustände der Lunge des Rindes (*Monatshefte für prakt. Thierheilkunde*. 1890.)
24. CORNIL et BABES, *Les bactéries*, Paris, 1890, t. II.

## INSTITUT PASTEUR

*Personne morte après traitement, d'une affection indéterminée*

ROBERT, Joseph, 8 ans, de Bougie département de Constantine, mordu le 4 octobre 1893; traité à l'Institut Pasteur du 10 au 28 octobre.

Les morsures au nombre de 10 étaient situées sur la main et l'avant-bras droit et sur la cuisse gauche; elles avaient été cautérisées à l'ammoniaque 5 heures après l'accident.

Le chien mordeur, examiné par M. Senac-Pagès, vétérinaire à Bougie, avait été reconnu enragé.

Le jeune Robert a succombé le 16 février 1894, au cours d'accidents nerveux que le docteur Perrusset, de Bougie, ne croit pas devoir rapporter à la rage. La maladie en effet n'a duré que 6 heures.

## INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE<sup>1</sup> DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. —  
FÉVRIER-MARS 1894.

	A		B		C	
Morsures à la tête { simples . . . . .	2	2	8	13	1	1
et à la figure { multiples . . . . .			5		1	
Cautérisations efficaces . . . . .						
— inefficaces . . . . .	1		2		1	
Pas de cautérisation . . . . .	1		11			
Morsures aux mains { simples . . . . .	5	12	48	80	14	29
— multiples . . . . .	7		32		17	
Cautérisations efficaces . . . . .			2			
— inefficaces . . . . .	6		26		16	
Pas de cautérisation . . . . .	6		52		13	
Morsures aux mem- { simples . . . . .	5	9	13	34	12	35
bres et au tronc { multiples . . . . .	4		21		23	
Cautérisations efficaces . . . . .						
— inefficaces . . . . .	8		20		19	
Pas de cautérisation . . . . .	1		14		16	
Habits déchirés . . . . .	3		26		34	
Morsures à nu . . . . .	6		8		1	
Morsures multiples en divers points du corps . . . . .	1	1	1	1		
Cautérisations efficaces . . . . .						
— inefficaces . . . . .	1					
Pas de cautérisation . . . . .			1			
Habits déchirés . . . . .						
Morsures à nu . . . . .	1		1			
Totaux. { Français et Algériens . . . . .	24	24	114	128	60	65
— Etrangers . . . . .			14		5	
	A		B		C	
TOTAL GÉNÉRAL . . . . .	217					

1. Les animaux mordeurs ont été : chats, 6 fois; cheval, 1 fois; mulets, 1 fois; chiens, 209 fois.

Le Gérant : G. MASSON.